



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES Y
DEGRADACIÓN FÍSICA DE EXCREMENTOS DE PUMA Y JAGUAR

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

PRESENTA

ÁLVARO JOSÉ VILLAFANE TRUJILLO

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. Marzo 2012



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES Y
DEGRADACIÓN FÍSICA DE EXCREMENTOS DE PUMA Y JAGUAR**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

PRESENTA:

ÁLVARO JOSÉ VILLAFANE TRUJILLO

COMITÉ DE TUTORES

Dr. Ulises Aguilera Reyes. Tutor Académico

Dr. Víctor Manuel Fajardo Guadarrama. Tutor Adjunto

Dr. Octavio Monroy Vilchis. Tutor Adjunto

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. Marzo 2012

RESUMEN

El uso de los análisis hormonales en excrementos de mamíferos es una metodología no invasiva que en muestras obtenidas de animales de vida libre permite obtener información biológica y conductual de la especie de estudio. En investigaciones realizadas con muestras obtenidas de animales en cautiverio y de vida libre no hay un método estandarizado para elegir la porción de muestra a analizar, no se considera la antigüedad del excremento. En animales de vida libre las muestras obtenidas varían por: temperatura, humedad ambiental, propiedades del suelo, a que otro animal altere el excremento, todo contribuyen a deteriorar características morfológicas y propiedades bioquímicas del excremento.

Se colectaron excrementos de pumas y jaguares del Zoológico Zacango debido a la facilidad para identificar la antigüedad y origen de cada muestra, los excrementos fueron transportados a diferentes áreas de estudio en donde estuvieron expuestos a las condiciones climatológicas. Se analizó el proceso de degradación física del excremento en temporada de lluvia y seca; simultáneamente se determinó la concentración hormonal diaria mediante cortes transversales en excrementos cilíndricos (Aranda, 2000). Ésta es el tipo de excremento adecuado y representativo para determinar la concentración hormonal mediante radioinmunoensayo (Brousset, 2005).

Los resultados sobre la degradación física de los excrementos se encuentran en tablas descriptivas y un registro fotográfico del proceso de descomposición en cada uno de las muestras monitoreadas; los cambios en color y tipo de superficie están en función de la humedad ambiental y de la capacidad del excremento para absorber y perder humedad. Todo indica que la concentración hormonal es heterogénea a lo largo del excremento; no existe correlación entre la temperatura ambiental y precipitación pluvial con la concentración hormonal temporal del excremento. Mediante un análisis de laboratorio complementario se demostró que hay variaciones diarias en las concentraciones hormonales basales en los excrementos de los animales de estudio.

Se discute el papel de las variables involucradas en que la concentración hormonal en un excremento no sea homogénea, entre ellas el metabolismo del animal (eficiencia del sistema digestivo y maduración sexual del individuo), la cantidad de quimo alimenticio, la cantidad de bilis secretada y los movimientos peristálticos del intestino los cuales determinan el tiempo y la proporción de la mezcla entre quimo y bilis.

Se concluye que es necesario estandarizar el método de toma de muestra, una elección inadecuada de excremento para análisis hormonal puede llevar a resultados equivocados a pesar de que el procedimiento de cuantificación sea correcto.

Palabras clave: Felinos, Hormonas Esteroides Sexuales, Radioinmunoensayo, Temperatura, Precipitación Pluvial.

ABSTRACT

The use of hormonal analysis in mammal excrement is a non invasive methodology in which samples obtained from animals that live in the wild permit obtain biological and behave information of the species in study. Research done in samples obtained from captive and wild animals, shows that there is not a standardized method to choose the right quantity of the sample to be analyzed; the age of the excrement is not considered. In wild animals, the samples obtained vary in temperature, humidity, soil properties, and another animal affecting the sample. All these aspects cause damage as morphologic characteristics as biochemical properties of the excrement. Jaguar and cougar excrement from Zacango zoo was collected, owing to the fact that it's easy to identify the age and origin of each sample. The specimen was transported to different study areas where it was exposed to different climate conditions. The excrement physical degradation in rainfall and dry seasons was analyzed; simultaneously, the daily hormonal concentration was determined through cross sections in cylindrical excrement (2000, Aranda). This is the appropriate kind of excrement, and it's representative to determine the hormonal concentration through radioimmunoassay (2005, Brousset).

The excrement physical degradation results are explained in descriptive charts and a photographic record explaining the decomposition process in each one of the monitored samples. The surface and color changes are linked to the environment humidity and the excrement capacity to absorb and lose humidity. The research indicates that the hormonal concentration is heterogeneous along the excrement; there is no correlation of environmental temperature and rainfall conditions with the temporal hormonal concentration of the excrement. Through a complementary lab analysis, it was shown that there are daily variations in the basal hormonal concentrations in the excrement of the animals studied. There is a discussion saying that the hormonal concentration in the excrement is not homogeneous, the variables involved are: the animal metabolism (digestive system efficiency and the animal sexual maturing), the eating chyme quantity, the secreted bile quantity, and the peristaltic intestine movements which determine the time and the mixture proportion between chyme and bile.

As conclusion, it's necessary to standardize the sampling method, an inadequate choice could lead to wrong results although the quantification procedure is correct.

Keywords: Feline, Sexual Steroids Hormones, Radioimmunoassay, Temperature, Rainfall.

DEDICATORIA

A mis Padres Laura Trujillo y Pedro Villafañe, me gustaría que estas palabras formaran un soneto en el cual les agradezco por los principios y lecciones que me han dado desde chamaco, por influenciar positivamente todas las etapas de mi vida, por seguirme enseñando cosas nuevas casi todos los días, por ser mi ejemplo a seguir en lo personal y profesional, por estar en la mayoría de los momentos cruciales en mi vida, por darme una hermana como Sofía, por darme un sin número de oportunidades para explorar el mundo. Los quiero por quienes son y por lo que representan en mi vida.

A mi Hermana Sofía Isabel, quien es una de las mujeres más valiosas que conozco y por llevarme la contraria en todo lo que puede aunque siempre me apoya en las cosas importantes.

A mi Madrina Eva Trujillo por su paciencia casi infinita y por participar en mi crianza.

A mis Amigos: Alan Vidaurri, Mario Ochoa, Mario Fu, Marco Montero, Fabricio Inzunza, Citlali Cabrera, Manuel Cañas, Luis Torres, Daniela Gutiérrez, Alberto Neri, Lizzouli Parra y Magdalena Aguilar, con el paso de los años se han vuelto parte de mi familia.

Sin todos ustedes el mundo seria monótono y aburrido, los quiero.

Color my life with the chaos of trouble.

AGRADECIMIENTOS

A los Doctores Ulises Aguilera Reyes, Víctor Manuel Fajardo Guadarrama y Octavio Monroy Vilchis, por sus observaciones y aportes significativos para este trabajo, además de la libertad para decidir.

A los directivos del Zoológico Zacango, M.V.Z. Manlio Nucamendi Subdías y M.V.Z. Jesús Frieventh Mondragón cuyas facilidades y permisos otorgados me permitieron acceder a los felinos/protagonistas de este trabajo.

A Oscar Malvaez Reyes por su disposición, colaboración y apoyo para “orquestrar” a los felinos, el proceso de colecta fue el primer paso del experimento y se realizaron gracias a él.

Al Dr. Manuel Antonio Pérez Chávez sin su invaluable y desinteresada ayuda simplemente hubiera sido imposible realizar el trabajo correspondiente a la temporada seca.

A la Dra. Georgina Isabel García López, por proporcionar los materiales y recursos financieros necesarios para el trabajo de laboratorio.

A los trabajadores del Parque Natural Sierra Nanchititla, por sus atenciones y apoyo durante la temporada de lluvia.

Al Dr. Javier Manjarrez Silva por su instrucción y guía en los análisis estadísticos de este trabajo.

A las Laboratoristas Norma Velázquez y Mercedes Pichardo por su colaboración y ayuda en los meses en que necesité usar el laboratorio y su equipo.

A Karina Barrera Aguilar quien para mi es una gran amiga y la base espiritual de la administración de posgrado.

A Norma Sarai Gómez Torres por ayudarme con tantas cosas de la escuela que ni siquiera sé por dónde empezar.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	i
ABSTRACT	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	vi
ÍNDICE DE GRAFICAS	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
Puma.....	1
Jaguar	1
Hormonas Esteroides Sexuales	3
Cuantificación de Hormonas Esteroides Sexuales	4
REVISIÓN DE LA LITERATURA	6
Estudios en Mamíferos Relacionados con Excrementos u Hormonas.....	6
Estudios en Felinos Relacionados con Excrementos u Hormonas.....	7
Estudios en Pumas y Jaguares Relacionados con Excrementos u Hormonas.....	8
JUSTIFICACIÓN.....	11
OBJETIVOS	12
HIPÓTESIS	12
ÁREA DE ESTUDIO	13
Temporada de Lluvia: Parque Natural Sierra Nanchititla	13
Temporada Seca: Temascaltepec.....	14
MATERIAL Y MÉTODOS	15
PARTE 1: Trabajo de Campo.....	15
Fase A): Proceso de colecta.....	15
Fase B): Monitoreo de excrementos	16
Análisis del Proceso de Degradación Hormonal.....	16
Análisis del Proceso de Degradación Física.....	17
Elaboración del registro fotográfico	19
PARTE 2: Trabajo de laboratorio.....	19
PARTE 3: Análisis Estadístico.....	20
RESULTADOS	21
Resultados de la Temporada de Lluvia, PNSN, Julio 2010.....	21
Degradación Hormonal	23
Correlación entre hormonas y precipitación pluvial en la época de lluvia	28
Degradación Física	29
Colores presentes en los excrementos.....	32
Análisis de residuos de dieta.....	35
Observaciones generales temporada de lluvia	35
Resultados de la temporada seca, Temascaltepec, Febrero-Marzo 2011	37
Degradación Hormonal	39
Resultados de las pruebas de laboratorio realizadas en Mayo 2011.....	43
Resultados de la cuantificación hormonal en diferentes partes de una mezcla de excrementos.....	46
Degradación Hormonal, Resultado General	48
Degradación Física	49
Observaciones generales temporada seca.	50
Análisis de excrementos, observaciones generales.	51

DISCUSIÓN.....	53
Degradación física.....	53
Degradación hormonal	57
CONCLUSIÓN.....	61
BIBLIOGRAFÍA.....	62
ANEXOS.....	67

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Excremento de puma macho adulto, proceso de colecta.....	15
Fotografía 2. Excremento de un jaguar hembra adulta, secuencia de cortes.....	16
Fotografía 3. Imágenes de un excremento de puma hembra juvenil, con 1 día de antigüedad y con 28 días de antigüedad.....	19
Fotografía 4. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos.....	33
Fotografía 5. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente.	33
Fotografía 6. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos poco diferenciables.	34
Fotografía 7. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos sólidos poco diferenciables.	34
Fotografía 8. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Diarrea con bordes circulares u ovalados.	34
Fotografía 9. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Diarrea con bordes irregulares.....	34
Fotografía 10. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Semisólido.....	35
Fotografía 11. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos.....	49
Fotografía 12. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos poco diferenciables.	49
Fotografía 13. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos sólidos poco diferenciables.	49
Fotografía 14. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Diarrea con bordes circulares u ovalados.	50
Fotografía 15. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Semisólidos.	50

ÍNDICE DE GRAFICAS

Grafica 1. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar hembra adulta.	26
Grafica 2. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar macho juvenil.	26
Grafica 3. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar macho juvenil.	26
Grafica 4. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma hembra adulta.	27
Grafica 5. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma macho adulto.	27
Grafica 6. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma macho adulto.	27
Grafica 7. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma macho adulto.	41
Grafica 8. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar macho juvenil.	42
Grafica 9. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar macho adulto.	42
Grafica 10. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma hembra juvenil.	42
Grafica 11. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma hembra adulta.	43
Grafica 12. Resultados de los análisis hormonales realizados en 3 excrementos de puma macho adulto.	44
Grafica 13. Resultados de los análisis hormonales realizados en 3 excrementos de puma hembra adulta.	44
Grafica 14. Resultados de los análisis hormonales realizados en 3 excrementos de jaguar macho adulto.	45
Grafica 15. Resultados de los análisis hormonales realizados en 3 excrementos de jaguar hembra adulta.	45
Grafica 16. Resultados de los análisis hormonales realizados en la mezcla de los excrementos depositados por un puma macho adulto durante 3 días.	46
Grafica 17. Resultados de los análisis hormonales realizados en la mezcla de los excrementos depositados por un puma hembra adulta durante 3 días.	47
Grafica 18. Resultados de los análisis hormonales realizados en la mezcla de los excrementos depositados por un jaguar macho adulto durante 3 días.	47
Grafica 19. Resultados de los análisis hormonales realizados en la mezcla de los excrementos depositados por un jaguar hembra adulta durante 3 días.	47

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Lista de cotejo para sistematizar la observación de excrementos de carnívoros.	18
Cuadro 2. Datos atmosféricos registrados en el PNSN durante la temporada de lluvia.	21
Cuadro 3. Información de los excrementos utilizados durante la temporada de lluvia, PNSN, 2010.	22
Cuadro 4. Concentración hormonal de progesterona, en todos los excrementos de estudio durante la temporada de lluvia.	23
Cuadro 5. Concentración hormonal de testosterona, en todos los excrementos de estudio durante la temporada de lluvia.	24
Cuadro 6. Concentración hormonal de estradiol, en todos los excrementos de estudio durante la temporada de lluvia.	25
Cuadro 7. Clasificación de los excrementos a partir de sus características morfológicas.	29
Cuadro 8. Tipos de superficie de los excrementos monitoreados.	30
Cuadro 9. Síntesis de las semejanzas y diferencias entre los diferentes tipos de excremento.	31
Cuadro 10. Tiempo de exposición según grupo de excrementos.	37
Cuadro 11. Información de excrementos utilizados en la temporada seca, Temascaltepec, 2011.	38
Cuadro 12. Concentración hormonal de progesterona, en todos los excrementos de estudio durante la temporada seca.	39
Cuadro 13. Concentración hormonal de testosterona, en todos los excrementos de estudio durante la temporada seca.	40
Cuadro 14. Concentración hormonal de estradiol, en todos los excrementos de estudio durante la temporada seca.	41
Cuadro 15. Concentración hormonal en diferentes excrementos de los felinos de estudio.	43
Cuadro 16. Concentración hormonal en diferentes partes de una mezcla de los excrementos depositados durante 3 días por los felinos de estudio.	46

INTRODUCCIÓN

Puma

El puma (*Puma concolor*) es el segundo felino más grande del continente americano, después del jaguar. Ocupa muchos tipos de ambientes, desde los desiertos hasta los bosques; altitudinalmente se encuentra del nivel del mar hasta los 3350 metros en Norteamérica y 4500 metros en Sudamérica (Logan y Sweanor, 2001). Su distribución geográfica va de la provincia canadiense de la Columbia Británica y el norte de los Estados Unidos hasta Argentina y Chile (Ceballos y Oliva, 2005). En la República Mexicana se encuentra prácticamente en todas las entidades (Ceballos y Galindo, 1984), en el Estado de México ha sido registrado en el volcán Iztaccihuatl, el Cerro de las Cruces, Zempoala y en la Sierra Nanchititla (Sánchez *et al.*, 2002 y Monroy *et al.*, 2009).

Esta especie tiene una gran importancia cultural, económica y biológica (Ray *et al.*, 2005), ya que es de las que se encuentran en la cima de la cadena trófica, proporcionando con su presencia información indirecta sobre la calidad y estado de conservación del hábitat; esto implica que como resultado de su conservación es posible favorecer a otras especies que se encuentran en los niveles tróficos inferiores (Miller *et al.*, 1999; Gittleman *et al.*, 2001).

A pesar de su importancia, no se tiene información suficiente sobre sus poblaciones, únicamente se sabe que han ido disminuyendo en los últimos años, debido a la pérdida de hábitat, caza indiscriminada, disminución de sus presas, por el conflicto que tiene con los granjeros (Logan y Sweanor, 2001; Sunquist y Sunquist, 2002) y por que en algunos lugares de Norteamérica se sigue considerando como una especie cinegética (Ceballos y Galindo, 1984; Ceballos y Oliva, 2005).

Jaguar

El jaguar (*Panthera onca*) es el cazador más fuerte y audaz de los carnívoros americanos. Habita en territorios diversos, desde selvas tropicales hasta sitios áridos o semiáridos. Es un hábil cazador terrestre y también es excelente trepador y nadador, por lo que transita desde las copas de los árboles hasta los ríos, lagunas y pantanos. Su visión y olfato son agudos; se reproduce en cualquier época del año y necesita un espacio de entre 10 y 90 km² para desarrollarse de manera normal (Chávez, 2006).

Originalmente se le encontraba desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina; sin embargo, su distribución se ha visto reducida, ha desaparecido totalmente de Uruguay y El Salvador. Su mayor abundancia se encuentra en la zona maya, es decir, el suroeste de México y noroeste de Guatemala y Belice; se encuentra también en la selva del Amazonas y algunas zonas de Argentina. Su situación actual en los estatus nacionales e internacionales de conservación es crítica, se encuentra catalogado en Peligro de extinción en la Norma Oficial

Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001 (Diario Oficial de la Federación, 6 de Marzo del 2002, Segunda Sección).

El puma y jaguar, al igual que otros carnívoros, son animales con mucha movilidad, solitarios, nocturnos, crípticos y generalmente se encuentran en baja densidad, esto dificulta el monitoreo y el levantamiento de censos (Conroy *et al.*, 1996), por lo que para su estudio se han aplicado diferentes métodos; algunos incluyen el conteo de rastros, excrementos, huellas, restos de presas y madrigueras. Estos métodos se conocen como indirectos (Walker *et al.*, 2000) y han sido frecuentemente utilizados, ya que proveen índices de abundancia y densidad relativas y son de bajo costo, proporcionando información confiable; sin embargo se ha visto que muestran una subestimación del número de individuos, por lo que se recomienda combinar más de un método indirecto (Sutherland, 1996). También existen los métodos directos, como el conteo de animales observados en trayectos lineales, fototrampeo (Walker *et al.*, 2000), radiotelemetría o bien el uso de jaulas u otro tipo de trampas.

Las investigaciones realizadas en México referente a estos felinos abarcan múltiples áreas de importancia sobre la especie; entre los trabajos más recientes Ortega (2006) realizó un estudio sobre la ecología espacial de puma y jaguar en el Estado de Querétaro. A partir de rastros y fotografías describió el uso de hábitat de estos felinos. El análisis de uso de hábitat mostró que el puma vive en altitudes de los 901 a los 1200 msnm y que no elige alguna vegetación en particular. A su vez el jaguar habita entre altitudes de 1201 a 1500 msnm y bosque de encino con vegetación secundaria, ambos escogen pendientes de 0 a 14° (Ortega 2006). Aplicando el mismo método Navarro-Serment y colaboradores (2005) reportan que las áreas extensas cubiertas por bosque tropical caducifolio (o selva baja caducifolia) son importantes para la conservación del jaguar.

Actualmente se desconocen muchas de las características de las poblaciones, su distribución y el número total de pumas y jaguares de vida libre, lo que se ha reportado es que en el Eje Neovolcánico su situación es crítica, por lo que se requiere tomar medidas adecuadas para su protección (Ceballos y Galindo, 1984). En esta zona se encuentra la Sierra de Nanchititla, Estado de México, lugar en el que se está llevando a cabo el proyecto “Desarrollo social sustentable y conservación de ecosistemas: El caso de la Sierra de Nanchititla”; para cumplir con los objetivos de dicho proyecto es imprescindible conocer las especies que habitan en el lugar, el tamaño de sus poblaciones y tendencias poblacionales, ya que a partir de esta información se podrán desarrollar propuestas para su conservación (Berwick y Saharia, 1995; Wilting *et al.*, 2006). Rodríguez (2007) realizó una investigación sobre la distribución y uso de hábitat de felinos en el Parque Natural Sierra Nanchititla, obtuvo 37 registros y estableció que la zona es un posible corredor y no un hábitat permanente del jaguar.

Los métodos que se han utilizado para realizar análisis ecológicos en carnívoros son: los rastros de actividad como huellas, excrementos, sitios de descanso, rascaderos, bañaderos, comederos, guaridas, telemetría, estaciones olfativas, fototrampeo, y cuestionarios (Aranda 2000, Monroy-Vilchis y Velázquez

2002, Botello 2004, Navarro 2005, Azlan y Sharma 2006, Chávez 2006, Chávez 2007, Naranjo y Bodmer 2007). Estos procedimientos no invasivos han permitido obtener información biológica, ecológica y conductual de las especies en estudio. Un muestreo no invasivo es una metodología que no provoca estrés¹ en los individuos para la valoración de indicadores de su fisiología, por ejemplo análisis de las hormonas esteroides sexuales (Lansley & Kirkpatrick 1991).

Hormonas Esteroides Sexuales

Los esteroides son lípidos complejos, derivados del colesterol, secretados por ovarios, testículos, glándulas adrenales y placenta; se ha demostrado que algunas de estas hormonas pueden sintetizarse también en el cerebro (Baulieu y Robel, 1990). Todas estas hormonas tienen una característica común: el anillo de ciclopentanoperhidrofenantreno, de manera que todas las hormonas esteroides difieren únicamente en los sustituyentes de esta estructura química. Los esteroides sexuales se dividen en tres grupos de acuerdo al número de carbonos adicionales presentes en la estructura base, corticoides y progestinas (21 carbonos), los andrógenos (19 carbonos) y los estrógenos con 18 carbonos. Debido a que las concentraciones hormonales producidas por el organismo son “bajas” (cuantificadas en ng/gr o pg/gr), éstas actúan en receptores específicos (Tipo I) para cada hormona llamada célula blanco (Pérez, 2005).

En felinos y otros mamíferos el ciclo reproductivo es denominado ciclo estral que incluye los eventos conductuales y fisiológicos (Kleiman, 1996), este ciclo actúa regulado por el sistema neuroendocrino, a través de hormonas sintetizadas bajo la vía hipotálamo-hipófisis-gónadas. Las hormonas esteroides sexuales (HES) como andrógenos, estrógenos y progestágenos son sintetizadas en ovarios, testículos, glándulas suprarrenales y placenta en el caso de las hembras preñadas. Las HES tienen como precursor el colesterol, éste se transforma en pregnenolona esteroide a partir del cual se biosintetizan progesterona, cortisol, testosterona y estradiol (Norman, 1997). La producción y secreción de las hormonas esteroides sexuales en machos y en hembras están promovidas por la hormona folículo estimulante y por la luteinizante, que son liberadas por la adenohipófisis, en respuesta a la hormona liberadora de gonadotropinas, sintetizada en el hipotálamo (Palacios 2007).

En los machos la testosterona es el andrógeno principal más importante que mantiene la espermatogénesis, crecimiento y función de los órganos sexuales accesorios, provoca el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios y modula las conductas específicas de cada especie como: reproductivas, de agresión, de

¹ Por lo general el estrés se refiere a una variedad de respuestas frente a estímulos (estresores) internos o externos, que modifican la homeostasis de un individuo, estos estímulos pueden ser factores físicos, fisiológicos, conductuales o psicológicos. Brousset *et al* 2005.

marcaje, cortejo y cópula (Kleiman, 1996). Hormonas como el estradiol y la progesterona regulan la conducta sexual de las hembras, la primera es responsable de todas las conductas de cortejo y cópula en gatos (Peretz, 1968); el cortisol se encuentra comúnmente asociado a la respuesta fisiológica ante el estrés, se ha demostrado que participa en múltiples funciones del organismo (Brousset, 2005).

La mayoría de los esteroides se metabolizan en el hígado y en los riñones, los metabolitos son transportados en el torrente sanguíneo para posteriormente ser eliminados en orina y bilis (Siiteri, 1981). La bilis se conjuga en el hígado, es almacenada en la vesícula biliar y luego pasa por el duodeno hasta llegar al yeyuno, en donde se absorben los nutrientes del quimo alimenticio y va al colon para ser expulsado del organismo, de esta forma los metabolitos de las hormonas esteroides están contenidos en el excremento.

Cuantificación de Hormonas Esteroides Sexuales

La cuantificación de hormonas esteroides sexuales se realiza a través de pruebas de inmunoanálisis como el radioinmunoensayo (RIA), enzimoimmunoensayo (EIA) y pruebas absorbentes de unión enzimática (ELISA). Aunque un ensayo quimioluminiscente que determina la reacción antígeno-anticuerpo también es útil en la determinación de hormonas.

Es necesario considerar varios aspectos del análisis en muestras biológicas, la concentración hormonal de un mamífero puede ser cuantificada en 4 tipos de muestra tales como sangre, orina, saliva y excremento; el análisis sanguíneo es altamente invasivo y conlleva múltiples variables que afectan el resultado final, en caso de utilizar algún narcótico un efecto colateral del mismo es alterar la concentración basal de cortisol, en caso de sólo utilizar la fuerza bruta para someter al animal la muestra no será útil debido a que el animal sufrió un estímulo estresor, por lo que se eleva el ritmo cardiaco. Exponer constantemente al animal a una situación de estrés provoca que se habitúe a dicho estímulo por lo que hay una atrofia en la magnitud y tiempo de respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal.

Los análisis en saliva son considerados no invasivos y son utilizados en procedimientos veterinarios para evaluar la respuesta fisiológica de animales que se encuentran en cautiverio, por lo tanto obtener este tipo de muestras en animales de vida libre no es viable.

Analizar orina también tiene complicaciones. La muestra es fácil de obtener en el caso de animales en cautiverio, pero el principal problema es que la cantidad de orina durante el día no es constante y la concentración de cualquier soluto se modifica a partir de la cantidad de agua filtrada por los riñones del animal.

Analizar excrementos es un procedimiento que genera mucha información, en el caso de muestras obtenidas en campo, éstas representan una señal inequívoca de la presencia del animal de estudio en la región, en caso de encontrarse varias muestras puede identificarse el área de distribución, debido a que morfológicamente los excrementos de puma y jaguar son muy parecidos la única forma de determinar con certeza a qué especie pertenece es mediante un análisis de pigmentos biliares se puede conocer la dieta del animal. Mediante cuantificaciones de testosterona y progesterona se puede establecer el sexo del animal; altas concentraciones de progesterona y estradiol indicarían que una hembra está preñada (esta prueba también se realiza en animales en cautiverio); una concentración elevada de cortisol indicaría que el animal está sometido a estímulos estresores así como a falta de disponibilidad de recursos e interacciones agresivas con otros individuos de su especie.

Las variables que afectan la concentración hormonal contenida en los excrementos son: constipación, diarrea, restricción de alimentos, cantidad de fibra en la dieta, tratamientos con antibióticos que afecten la microbiota intestinal en los individuos y las características metabólicas de cada individuo (Brousset, 2005).

REVISIÓN DE LA LITERATURA

Estudios en Mamíferos Relacionados con Excrementos u Hormonas

Tradicionalmente la cuantificación hormonal se realizaba a partir de muestras de sangre, pero esta técnica implica un gran riesgo al atrapar al individuo a estudiar y el intenso estado de estrés generado pone en riesgo su vida (Junge 1966, citado en Blanvillian *et al.*, 1997); por otra parte, se ha reportado que el estrés de la captura y manipulación induce a la secreción excesiva de progesterona adrenal en cérvidos (Plotka *et al.*, 1983), alterando los resultados obtenidos.

El tiempo que se invierte en insertar las cánulas en los vasos sanguíneos del animal y la dificultad para que se mantengan fijos hace necesaria la utilización de métodos indirectos para la obtención de perfiles hormonales. En consecuencia, los avances metodológicos resultan significativos ya que el monitoreo no-invasivo ha ganado importancia recientemente para el estudio de especies silvestres (Wasser *et al.*, 1991, Wihlten *et al.*, 1998). El uso de la técnica a partir de la orina es muy útil pero también presenta problemas, extraer la orina que el animal acaba de depositar en la tierra, por ejemplo. Por lo tanto es más adecuado usar excrementos, que contienen una buena cantidad de hormonas sexuales y sus metabolitos. Más del 95% de estradiol y progesterona en gatos domésticos son excretadas en la materia fecal (Shille *et al.*, 1984 y Brown *et al.*, 1994). El cortisol es el glucocorticoide de mayor excreción en gatos (Shille *et al.*, 1984).

Estudios relativamente recientes han aplicado una metodología sistemática con trampas-cámara para evaluar abundancia relativa de mamíferos (Van Schaik y Griffiths 1996, Alzan y Sharma 2003,). Las cámaras-trampa se colocan en áreas que tienen indicadores (excrementos, huellas, madrigueras, restos de presas) de la presencia de los animales de estudio y en el caso de especies con marcas individuales (rayas, manchas) se han utilizado para estimar densidad, abundancia, con base en técnicas de captura-recaptura, así como en estudios de uso de hábitat, patrones de actividad y áreas de acción (Botello 2006, Chávez 2006, Chávez 2007).

La técnica de fototrampeo ha permitido registrar diferentes especies de mamíferos medianos y grandes; utilizada para realizar inventarios y estudios ecológicos en mamíferos (Silveria 2003, Wallace 2003, Botello 2004, 2005 y 2006); detectar especies crípticas, raras o nocturnas, como tigres, ocelotes, jaguares y otros carnívoros que son difíciles de capturar con técnicas tradicionales, así como para estudiar especies amenazadas, vulnerables y en peligro de extinción, cuya captura o colecta están prohibidas (Sánchez Cordero *et al.*, 2005); para detectar mamíferos pequeños, depredadores de nidos de aves (Laurance y Grant 1994), hasta osos negros y rinocerontes (Griffiths y Van Schaik 1993, Laurence y Grant, 1994).

En México existen escasos reportes sobre estudios de mamíferos mediante fototrampeo, entre ellos se encuentran Lorenzana y colaboradores (2004), quienes realizaron un inventario de la mastofauna en la Sierra Madre Occidental en Sonora, con datos sobre la distribución, asociación de hábitat y modelos de actividad de mamíferos terrestres de tamaño mediano y grande. Asimismo, Botello y colaboradores (2004, 2005) registraron el patrón de actividad y distribución de carnívoros en selva baja caducifolia en los municipios de Santiago Nacaltepec, Concepción Pápalo y Santa María Tecomavaca, Oaxaca. Azuara (2005), realizó un estudio sobre abundancia relativa de mamíferos terrestres en la Selva Lacandona, Chiapas.

Un estudio realizado en la selva alta perennifolia de Los Tuxtlas, Veracruz, reporta 42 registros fotográficos de especies de mamíferos terrestres de los Ordenes Rodentia, Carnivora, Edentata y Artiodactyla, de los cuales el 50% fueron mamíferos de hábitos nocturnos y el 50% de hábitos diurnos (Estrada, 2007).

Martínez-Romero (2004) realizó un seguimiento de excrementos de venado cola blanca en cautiverio, mantuvo los excrementos a la intemperie durante 5 días, eligió muestras diarias de cada excremento y concluye que la concentración inicial de testosterona disminuyó un 80% en los primeros 5 días, mientras que durante el mismo tiempo el estradiol sólo redujo 15%; completó esta prueba con un registro fotográfico de los cambios en los excrementos durante el periodo de observación para brindar una guía a investigadores posteriores.

Valdespino *et al* (2007), mencionan las aplicaciones e información que se puede obtener al coleccionar y analizar excrementos, el tipo de tratamiento que recibe cada muestra, un excremento después de ser coleccionado y congelado es viable para análisis hormonal sólo durante los primeros 3 meses. Dreschel (2009) analizó saliva de perros para relacionar las concentraciones de cortisol en saliva con los niveles de cortisol plasmático como indicadores de actividad en el eje Hipotálamo-Hipófisis-Glándula Adrenal. Se desconoce la eficiencia en la toma de muestras, el efecto que tiene el ácido cítrico como estimulador de la salivación, determina que las partículas animales y vegetales interfieren con los anticuerpos de las pruebas de inmunoanálisis.

Estudios en Felinos Relacionados con Excrementos u Hormonas

Czekala *et al.*, (1986) describe que en guepardos (*Acinonyx jubatus*) en semi-cautiverio, el estradiol aumenta 1 día después de la cópula y cuando se presenta la ovulación aumentan las concentraciones de progesterona. En un estudio con hembras de cheetas, Wielebnowski (1998) realizó observaciones conductuales y monitoreo de estradiol encontrando una relación positiva entre el aumento de conductas como: ronroneo, orinas en forma de "spray" y vocalizaciones con el incremento en las concentraciones de dicha hormona en excrementos. Trabajos similares se han hecho con leones (*Panthera leo persica*), tigres (*Panthera tigris*) y leopardos de las nieves (*Panthera uncia*) donde también encuentran una relación

positiva entre la presencia de conductas sexuales y las concentraciones de Estradiol (Graham, 1995).

Brown (1994) realizó un estudio con gatos domésticos (*Felis silvestris catus*), comunica que las hembras en periodos ovulatorios alcanzan concentraciones de 150 ng/g de Estradiol. Un estudio hecho por Wildt *et al.*, (2003); en un zoológico de Estados Unidos describe que en ocelote (*Leopardus pardalis*), el estro puede presentarse durante todo el año además de que es un ovulador reflejo al igual que el leopardo (*Panthera pardus*). El estudio de Moreira (2001) con el género *Leopardus*; reporta que mientras que en el gato asiático (*Otocolobus manul*), existe una marcada estacionalidad, en aquella especie el apareamiento se presenta en los meses de enero a abril cuando se elevan las concentraciones de Estradiol en la hembra y de Testosterona en el macho, en los meses seguidos los niveles de Estradiol y Testosterona bajan drásticamente, estos perfiles hormonales se obtuvieron con radioinmunoensayo en sangre. En este gato asiático también se comunica que las concentraciones de Estradiol durante el anestro son de 50 ± 8.5 ng/g, en época de apareamiento (enero-abril) las concentraciones oscilan entre 128 ± 18.9 ng/g y pueden llegar hasta 455.8 a 909.6 ng/g; en la preñez la concentración de progesterona es de 40 ng/g, en los machos existe una alta producción de espermatozoides durante el estro (Brown, 1994).

Torres (2009) realizó un estudio sobre la ecología del ocelote (*Leopardus pardalis*) en el noroeste de Quintana Roo, mediante fototrampeo determinó la abundancia, así como la proporción de machos y hembras en vida silvestre fuera de un área protegida; como resultado colateral obtuvo pruebas de la presencia de otros felinos como jaguar (*Panthera onca*), puma (*Puma concolor*) y tigrillo (*Leopardus wiedii*).

Estudios en Pumas y Jaguares Relacionados con Excrementos u Hormonas

Las conductas asociadas al cortejo de los pumas son similares a las de otros felinos, inicialmente la hembra entra en un periodo de agresión, aumenta su receptividad con rugidos para atraer al macho; durante la copula el macho ruge y muerde a la hembra por el cuello (Logan *et al.*, 1996), el índice de cópulas al día va desde 2 a 20 veces diarias durante seis a once días (Meher, 1975). Lanier y Dewsbury (1976) observaron que la duración de la cópula de pumas en cautiverio es de menos de un minuto.

Aranda (2000) realizó una descripción sobre los diferentes tipos de rastros de mamíferos medianos y grandes en México, describió las especies de estudio, su distribución y hábitat, el tipo de huellas que dejan así como la distancia entre ellas e hizo una descripción sobre la morfología y coloración de excrementos de puma y jaguar, esta publicación es el único registro formal al respecto.

En condiciones naturales la mayor probabilidad de preñez está entre el día 1 y seis, siendo más común en el cuarto día del ciclo estral. A pesar de la variación

de temperaturas en el Norte de América los nacimientos de pumas se pueden presentar todo el año, pero el mayor número de nacimientos se registra entre los meses de abril a septiembre (Ross *et al.*, 1992, Lindzey *et al.*, 1987 citados en Sunquist *et al.*, 2002). En Texas, Sunquist *et al.*, (2000) publicaron que, en un parque donde los pumas están en semicautiverio, antes y durante el periodo estral los marcajes de orina por machos y hembras aumentan, así como las vocalizaciones emitidas por la hembra, que usualmente indican receptividad.

Existen estudios en Nuevo México, Estados Unidos, que reportan el estro y periodo de receptividad de pumas hembra (*Puma concolor*) en condiciones de cautiverio con duración de 7 a 8 días con un rango de 4 a 12 (Sadleir, 1966), cada 30 a 60 días (Maehr *et al.*, 1989, Logan *et al.*, 1996); mientras que en vida salvaje permanecen de 4 a 6 días típicamente (Maehr *et al.*, 1989, Sweanor, 1990, Logan *et al.*, 1996). La edad a la que comienza la actividad reproductiva en las hembras varía de acuerdo a las condiciones ambientales, pueden empezar a los 29 meses con un rango de 19 a 37 meses en los felinos de nuevo México (Logan *et al.*, 1996), pero en cautiverio comienza de los 21.8 a los 33 meses de edad. Hayssen y Van Tienhaven (1993) describieron que en algunos zoológicos de Canadá y Estados Unidos el periodo estral del puma durante el invierno tiene una duración de 7 a 9 días, con intervalos de 23 días, los apareamientos ocurrían de diciembre a marzo y los nacimientos de cachorros de junio a septiembre, aunque pueden presentarse durante todo el año.

Una investigación realizada en pumas comunica que las concentraciones basales de estradiol son de 5-30 pg/ml interrumpidos por concentraciones de 30-375 pg/ml en intervalos de 17 a 25 días, las concentraciones más altas se presentan durante el estro; la ovulación se confirmó por laparoscopia cuando la progesterona aumentaba hasta 150-300 pg/ml, ya que su nivel basal fue de 2 ng/g (Booney *et al.*, 2003).

Sarmiento (2004) estimó la población de jaguares en el Parque Nacional Corcovado en Costa Rica mediante el método de fototrampeo; asimismo determinó la distribución y densidad. Chávez *et al.*, (2006), realizaron un estudio sobre densidad y abundancia de jaguar en la Reserva de la Biosfera Calakmul, identificando así una de la poblaciones más grandes de jaguares para esta zona.

Mediante radioinmunoanálisis y análisis coproparasitoscópico Díaz (2006) comparó los niveles de cortisol y estado endoparasitario, en excrementos de jaguares y pumas en vida libre colectadas en áreas de aprovechamiento forestal y en otras altamente perturbadas. Por medio de video-filmación y fototrampeo Faller y colaboradores (2006) confirmaron la presencia y estudiaron *grosso modo* el comportamiento de una pareja de jaguares dentro de una reserva privada en la porción noroeste de la Península de Yucatán.

En el 2007 Palacios realizó, en el Parque Nacional Sierra Nanchititla (PNSN), un monitoreo hormonal no invasivo en pumas en condiciones de cautiverio y en vida libre. Obtuvo datos cuantitativos etológicos y hormonales de estudios realizados en cautiverio los cuales ayudaron a comprender mejor el ciclo estral de los pumas y a identificar patrones reproductivos estacionales. Rodríguez (2007) por medio de fototrampeo, revisión bibliográfica, cuestionarios aplicados a los habitantes de la región, rastros (huellas, excrementos, restos de presas) y bases de datos describió la distribución y uso de hábitat de los felinos del PNSN, determinó la presencia y distribución de: *Puma concolor*, *Panthera onca*, *Leopardus pardalis*, *Leopardus wiedii* y *Puma yagouaroundi*.

En 2007 Soria estimó la abundancia y densidad así como la variación temporal y espacial del Puma en la Sierra Nanchititla por medio de fototrampeo obteniendo resultados significativos. Las investigaciones documentadas, indican que el uso de cámaras trampa es una herramienta no invasiva, que junto con otras técnicas complementarias (excrementos, huellas, avistamientos y encuestas) ayudan a obtener información ecológica, biológica y conductual sobre poblaciones de mamíferos silvestres en casi cualquier ecosistema terrestre, con fines de conservación de la fauna silvestre (Silveira, 2003).

Cazón *et al.*, (2009), mencionan el uso constante de excrementos porque es una fuente de información en los estudios de registro de fauna, estas muestras son de gran utilidad para el estudio de grandes carnívoros los cuales son difíciles de ver, en el caso puma y jaguar al tratarse de especies simpátricas el análisis de pigmentos biliares en excrementos es la única alternativa concluyente para identificar a que especie pertenece cada muestra de estudio.

JUSTIFICACIÓN

Cuantificar las concentraciones de HES en excremento de animales de vida libre permite identificar el sexo del animal que lo depositó y realizar inferencias sobre la homeostasis y el estado reproductivo de esa especie. Con las especies en cautiverio se pueden establecer los perfiles hormonales de los animales antes, durante y después del ciclo reproductivo para correlacionarlos con conductas estereotipadas. También existen investigaciones enfocadas a monitorear las concentraciones hormonales durante la gestación en diferentes especies.

En investigaciones con excrementos de animales de vida libre y/o en cautiverio sólo se realiza una cuantificación hormonal por excremento, la elección de la porción de muestra a analizar no es un procedimiento estandarizado, asumir que la concentración hormonal es homogénea en toda la muestra y que estas concentraciones son constantes a lo largo de un periodo de tiempo puede originar conclusiones parcialmente correctas.

En investigaciones donde utilizan excrementos obtenidos de animales de vida libre, no se considera que las condiciones del medio puedan alterar las propiedades bioquímicas del excremento a lo largo del tiempo. Al desconocer la antigüedad de la muestra se considera la concentración hormonal obtenida, como la concentración inicial total contenida en el excremento al momento de ser depositado, es controversial realizar dicha suposición.

En estudios realizados con excrementos de animales en cautiverio, después de que la muestra es depositada se realizan los análisis correspondientes, en algunos casos los datos obtenidos son contrastados con información existente de animales de vida libre, no es adecuado comparar estos resultados debido a que ambos excrementos están sometidos a variables diferentes y además en las muestras colectadas en campo se desconoce la antigüedad de las mismas.

No existe un registro sobre la pérdida de la concentración de hormonas esteroides sexuales en excrementos de carnívoros; realizar cortes diarios a un mismo excremento permitirá conocer si la concentración hormonal es homogénea en todo el excremento y establecer cuáles son los cambios en estas concentraciones durante un periodo de tiempo. Por tal razón, este trabajo permitiría obtener una mayor precisión en la cuantificación de las concentraciones hormonales cuando se analicen excrementos de animales de vida libre.

OBJETIVOS

Cuantificar la concentración de hormonas esteroides sexuales en excrementos de pumas y jaguares en condiciones naturales durante las temporadas seca y de lluvia.

Determinar los cambios físicos del excremento durante el proceso de degradación en las temporadas seca y de lluvia.

HIPÓTESIS

La concentración de Hormonas Esteroides Sexuales en excrementos disminuirá a lo largo del tiempo.

La velocidad de degradación física de los excrementos será mayor en temporada de lluvia que en la temporada seca.

villafanetrujillo85@gmail.com © 2012

ÁREA DE ESTUDIO

Temporada de Lluvia: Parque Natural Sierra Nanchititla

El Parque Natural Sierra Nanchititla fue decretado el 15 de noviembre de 1977, es administrado por la Comisión Estatal de Parques Naturales y de la Fauna (CEPANAF). Se encuentra ubicado en el suroeste del Estado de México, en la región fisiográfica de la Cuenca del Balsas, Provincia Sierra Madre del Sur, Subprovincia Depresión del Balsas, sus coordenadas son: Latitud norte, 18° 57' 37" a 18° 47' 01" y Longitud oeste, 100° 28' 15" a 100° 17' 07"; su extensión es de 67,410 hectáreas de las cuales 1600 están cercadas.

La altitud varía entre los 420 y 2100 metros sobre el nivel del mar, el clima es cálido en las zonas más bajas y semicálido en las partes altas; la precipitación pluvial es de 1000 a 1500 mm anuales con una marcada estacionalidad entre la temporada de lluvia (junio a octubre) y la temporada seca (noviembre a mayo) (Gobierno del Estado de México, 1999).

Los principales tipos de vegetación en el PNSN son: Bosque de pino-encino el cual tiene un clima templado subhúmedo y una temperatura media entre los 12° y 16° C, y manchones de selva baja caducifolia con una temperatura promedio entre los 5° y 7° C.

En la región se han registrado 37 especies de mamíferos (López, 2001; Sánchez *et al.*, 2002); 83 especies de aves (Gobierno del Estado de México, 1999), 28 especies de reptiles, 20 especies de anfibios (Casas-Andreu y Aguilar-Miguel, 2005) y 2 especies de peces (Méndez y Garduño 2001).

Dentro del PNSN se ha registrado la presencia y área de distribución de 5 de los 6 felinos existentes en México, éste es el principal criterio de selección del PNSN como área de estudio; estos felinos son: Jaguar (*Panthera onca*), Puma (*Puma concolor*), Ocelote (*Leopardus pardalis*), Yaguarundi (*Puma yagouaroundi*) y Tigrillo (*Leopardus wiedii*) (Rodríguez, 2007).

Debido a conflictos sociales y de violencia que hay en distintas partes del país y sobre todo en las zonas rurales no se pudo regresar al PNSN para el trabajo de campo durante la temporada seca (Marzo 2011), por lo tanto se decidió trabajar en el municipio de Temascaltepec, aunque la altura del medio es diferente y no se tiene registro de felinos en la región, el tipo de hábitat y condiciones climatológicas son semejantes, por lo que se eligió como el área alterna de estudio.

Temporada Seca: Temascaltepec

El Municipio de Temascaltepec, perteneciente al Estado de México, se encuentra en la provincia de la Sierra Madre del Sur y Subprovincia de la Depresión del Balsas, las coordenadas exactas son: Latitud norte, 18° 58' 43" a 19° 13' 54" y Longitud oeste, 99° 48' 50" a 100° 14' 20".

En la región predominan los climas subhúmedos cálidos y semicálidos, en algunas partes elevadas se encuentran climas semisecos templados y semifríos (Pérez Chávez *et al.*, 2009); la temperatura media anual varía entre los 18 y 22° C, la precipitación pluvial media anual se encuentra entre los 800 y 1600 mm (Guerrero, 2007). Respecto a la topografía la altitud oscila entre los 1,420 y 3,080 metros sobre el nivel del mar (Borboa, 1999).

Existen múltiples trabajos de investigación sobre el municipio de Temascaltepec. En el caso de las tesis recepcionales la mayoría está orientada a información relacionada con agronomía y veterinaria. En los artículos científicos se tienen claramente identificadas las especies vegetales y la avifauna, pero no existe un registro formal sobre las especies animales presentes en la región. Borboa en 1999 reporta (información obtenida mediante entrevistas con la población del municipio, por lo que sólo conoce los nombres populares de los animales y no los nombres científicos) la presencia de 3 especies de anélidos, 4 de anfibios, más de 7 especies de arácnidos, 4 de crustáceos, 51 especies de aves, 42 de insectos, 7 de peces, más de 6 especies de reptiles y 33 especies de mamíferos que incluyen al gato montés y tigrillo. No hay registros de pumas o jaguares en la región.

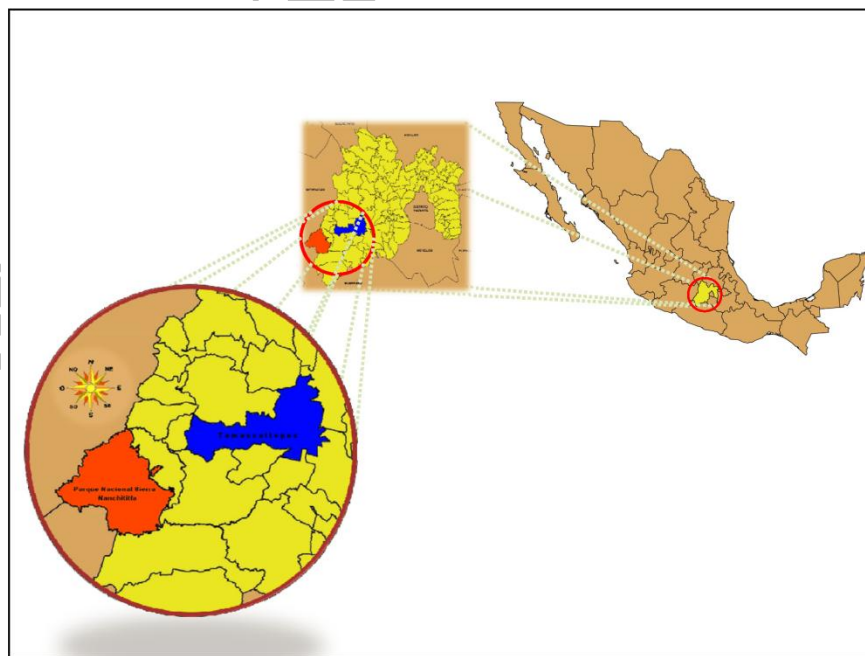


Figura 1. Mapa que indica la localización de las áreas de estudio.

Fuente: Elaboración propia

MATERIAL Y MÉTODOS

PARTE 1: Trabajo de Campo

Fase A): Proceso de colecta (temporada de lluvia junio y julio de 2010, temporada seca febrero y marzo 2011).

Los excrementos fueron colectados de pumas y jaguares pertenecientes al Zoológico Zacango, los animales de los cuales se obtuvieron las muestras son tres pumas (un macho adulto, una hembra adulta y una hembra juvenil con edades de 9, 6 y 3 años) y tres jaguares (un macho melanico adulto, una hembra amarilla adulta y un macho amarillo juvenil de 4, 10 y 2 años respectivamente) cuya dieta consiste en 4 kilos de carne sin pelo de res o caballo durante cinco días a la semana, para identificar fácilmente a que animal pertenecía cada excremento los felinos fueron colocados durante la noche en encierros individuales.

Una vez que los excrementos fueron depositados por los felinos, cada una de las muestras se colocó en un marco de madera con malla tipo mosquitero y fueron etiquetadas con los siguientes datos: especie a la que pertenece, sexo, tipo de degradación a estudiar y fecha. Este procedimiento facilitó el transporte sin tener que manipularlos y por lo tanto alterarlos; además permitió exponer las muestras a las condiciones climatológicas del área de estudio, así como aislarlas del suelo para evitar el contacto directo con el estrato y por ello acelerar el proceso de degradación física y hormonal. Posteriormente los excrementos fueron trasladados al área de estudio (Parque Natural Sierra Nanchititla en la temporada de lluvia y un rancho en Temascaltepec durante la temporada seca). El procedimiento se repitió en cada una de las ocasiones en que se colectaron excrementos y con cada una de las muestras.



Fotografía 1. Excremento de puma macho adulto, así se veía cada excremento colectado, el marco contiene la información necesaria para identificar cada muestra.

Fase B): Monitoreo de excrementos

Los excrementos obtenidos del Zoológico Zacango se clasificaron en dos grupos: excrementos para monitorear degradación hormonal y excrementos para monitorear degradación física; posteriormente fueron trasladados y colocados en el área de estudio (dentro de las instalaciones cercadas del PNSN en la temporada de lluvia y en las inmediaciones de un rancho en Temascaltepec durante la temporada seca) para monitorearlos.

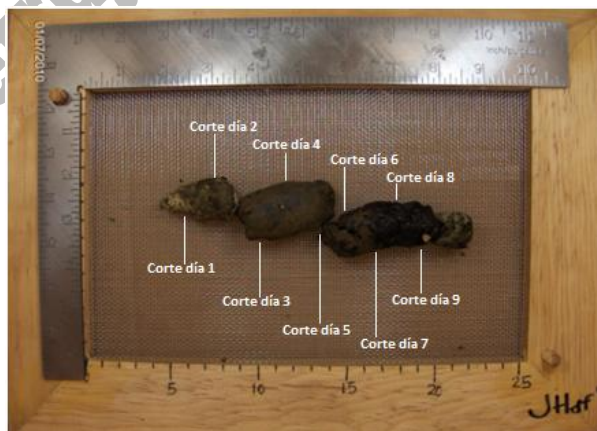
Para la temporada de lluvia se colectaron 36 excrementos de los cuales 30 fueron utilizados para análisis de degradación física (17 muestras de jaguar y 13 de puma), mientras que para el estudio de degradación hormonal se utilizaron 6 muestras.

En la temporada de seca se trabajó con 33 excrementos, 5 fueron empleados para el experimento de degradación hormonal, mientras que para el estudio de degradación física se usaron 28 excrementos, 11 fueron de pumas y 17 de jaguares.

Todos los días durante ambos periodos de estudio se midió la temperatura ambiental y en el caso de la temporada de lluvia también se cuantificó la cantidad de milímetros de lluvia que cayó durante la madrugada y/o el día.

Análisis del Proceso de Degradación Hormonal

Diariamente, a cada uno de los excrementos se le realizó un corte transversal con espátula metálica (en el orden mostrado en la imagen) aproximadamente de 3 mm de ancho, medido con un Vernier, y la muestra se colocó en un frasco de plástico (debidamente etiquetado: fecha, individuo a la que pertenece la muestra y número de repetición) con 30 mm de alcohol al 90% para evitar la formación de hongos y bacterias.



Fotografía 2. Excremento de un jaguar hembra adulta, la imagen ejemplifica la secuencia de los cortes transversales que se realizaron en cada una de las muestras que sirvieron para cuantificar la degradación hormonal.

Inicialmente cada excremento contaría con un número de 30 cortes transversales o repeticiones (una por cada día de monitoreo) pero cada vez que se realizaba un corte al excremento éste quedaba más expuesto a las condiciones climatológicas y por lo tanto el proceso de degradación física del excremento se aceleró, por lo que se obtuvieron menos repeticiones de cada excremento de las originalmente planeadas.

Cada repetición tiene una concentración hormonal específica, al obtener los valores y graficarlos se conoció la concentración de las hormonas en el excremento a lo largo del tiempo.

Análisis del Proceso de Degradación Física

Durante los días de monitoreo se anotaron las principales características observadas sobre los cambios que presentaron los excrementos a lo largo del tiempo (color, superficie, forma, exposición de residuos de dieta). Diariamente los excrementos fueron fotografiados para obtener el registro visual del proceso de descomposición y de los cambios morfológicos que tuvieron los excrementos durante el periodo de estudio.

Se diseñó una lista de cotejo que permitió sistematizar las observaciones realizadas. Los cambios que puede tener cualquier excremento están registrados en 3 grandes grupos: Superficie, Color y Exposición de residuos de dieta. A su vez cada grupo tiene diferentes categorías que se dividen en 3 opciones, tipo de cambio, proporción y porcentaje.

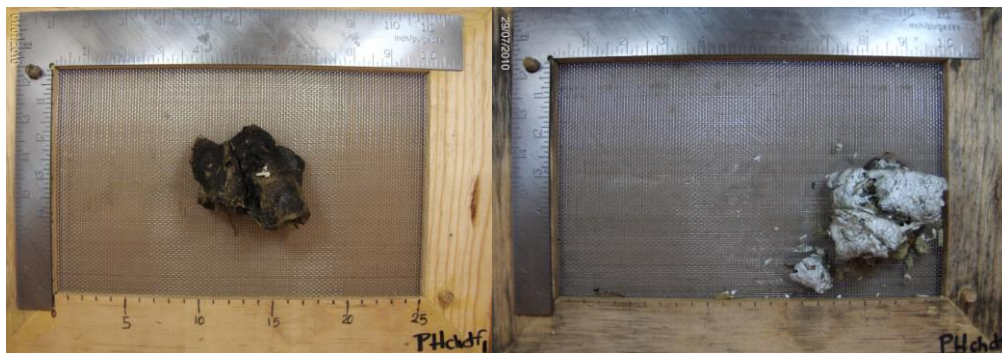
Cuadro 1. Lista de cotejo para sistematizar la observación de excrementos de carnívoros.

GRUPOS	CATEGORÍAS	Tipo de cambio – proporción –porcentaje.
El cambio está presente en:	Tipo de cambio registrado	Significado del cambio
Superficie	Tipo de superficie al inicio del monitoreo:	Puede ser lisa, agrietada o porosa.
	El excremento se fragmenta poco a poco.	El excremento se rompe en pedazos más pequeños.
	El excremento no tiene cambios respecto al día anterior.	No hay cambios, la muestra es exactamente igual al día anterior.
	El excremento esta mojado.	Esto se registra cuando el excremento está húmedo debido a que llovió.
	Reducción de superficie (reducción de bordes).	Cambio registrado sólo en las diarreas, el área que ocupa el excremento es menor al día anterior.
	Superficie se contrae.	Cambio registrado sólo en las diarreas, la superficie del excremento esta contraído, respecto al día anterior.
	El volumen de la superficie aumenta.	Cambio registrado sólo en las diarreas, cuando este tipo de excremento está en contacto con la lluvia la muestra absorbe humedad y su volumen aumenta.
	Superficie es lisa.	Solo registrado en los excrementos en forma de segmentos, cualidad de la superficie del excremento cuando está fresco. Dura pocos días.
	Superficie agrietada.	La superficie del excremento se agrieta paulatinamente dependiendo de la pérdida de humedad, las superficies se hacen más pequeñas cuando la muestra está en contacto con la humedad de la lluvia. Estos cambios no ocurren en las diarreas.
Color	Superficie porosa.	La superficie del excremento tiene pequeños huecos en las partes más secas, la superficie es parecida a la de una piedra pómez.
	Color oscuro.	El color puede ser negro o café, es necesario identificar el color que tiene mayor intensidad en la muestra ese es el que se toma como color oscuro.
	Apariencia brillante.	El color puede ser negro o café pero cuando la superficie del excremento esta mojada, los colores se oscurecen y la superficie es brillante, la cual toma apariencia brillante.
	Color opaco.	Puede ser un color café opaco o un color grisáceo, está asociado a las partes secas del excremento y se determina que es opaco al compararlo con las tonalidades más oscuras del excremento.
Exposición de residuos de dieta	Color blanquecino.	El color es totalmente blanco, corresponde a las partes totalmente secas del excremento.
	Pelos Pasto Huesos Tejido conectivo	En este caso solo se registra el tipo de residuo de dieta que queda expuesto con el paso del tiempo y cada cuantos días queda más expuesto.

Fuente: Elaboración propia.

Elaboración del registro fotográfico

Los marcos conteniendo los excrementos fueron colocados dentro una caja de triplay (39 cm de largo, 29 cm de ancho y 26 cm de alto) para aislarlos, de esta forma la distancia de la fotografía y las condiciones de luz siempre fueran las mismas, la caja tenía un hueco en el centro para colocar la cámara fotográfica, para la iluminación se utilizaron 2 focos de luz blanca de 13 watts.



Fotografía 3. Imágenes de un excremento de puma hembra juvenil, en la fotografía izquierda el excremento está fresco, la imagen derecha fue tomada 28 días después, los cambios son evidentes.

PARTE 2: Trabajo de laboratorio

Para cuantificar las concentraciones hormonales en los excrementos, en cada repetición el excremento fue sometido a una extracción de esteroides utilizando alcohol, posteriormente las concentraciones hormonales se determinaron mediante el método de radioinmunoensayo. (Ver Método de extracción de esteroides y radioinmunoensayo, en Anexos)

Debido a que los resultados en las concentraciones hormonales de la temporada de lluvia (Julio 2010) fueron inesperados, en mayo de 2011 se realizaron dos pruebas de laboratorio adicionales. La primera permitió conocer las concentraciones que había en diferentes excrementos de un mismo animal durante tres días consecutivos y así conocer con precisión los cambios diarios en la concentración hormonal total en cada excremento; la segunda sirvió para determinar las diferencias en las concentraciones hormonales en distintas fases de una mezcla de excrementos. Durante tres días se colectaron excrementos en forma de segmentos de un macho y una hembra de cada especie.

Primera prueba. Método para establecer la concentración hormonal contenida en los excrementos depositados durante tres días.

Diariamente cada excremento fue colocado en un mortero y se homogenizó hasta que se obtuvo una mezcla uniforme. En este proceso no se agregó agua adicional para diluir el excremento. Luego se tomaron dos porciones (de 5 ml cada una) de la fase media de la mezcla (se eligió esa parte considerando que tuviera una concentración hormonal promedio de todo el excremento), ambas fueron colocadas en viales de centelleo vacíos pero sólo en uno se agregó 10 ml

de alcohol al 90%; la segunda muestra que no contenía alcohol fue depositada en un congelador a -40° C. Cada una de las muestras fue debidamente etiquetada.

Para la extracción de esteroides en las muestras con alcohol, fueron agitadas dentro del vial, después de 2 minutos se tomaron 4 mililitros de la muestra y se continuó con el método.

Segunda prueba. Método para la toma de muestras que permiten determinar las concentraciones hormonales en distintas fases de la mezcla de tres excrementos.

En este caso se mezclaron todas las muestras congeladas de cada individuo obtenidas durante los tres días de monitoreo, los excrementos se colocaron en un vaso de precipitado de 50 mililitros se agregaron 30 ml de alcohol al 90% y con una varilla de vidrio se revolvió el conjunto de excrementos durante cinco minutos; posteriormente se extrajeron cuatro mililitros de diferentes fases de la mezcla de excrementos, las cuales fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos y posteriormente se obtuvieron las concentraciones hormonales mediante radioinmunoensayo.

PARTE 3: Análisis Estadístico

Debido a las diferentes características entre las poblaciones de pumas y jaguares (mismo número de individuos por población, diferencias en las proporciones de machos y hembras por especie, diferente número de adultos y juveniles por especie) y la naturaleza de los datos, estos fueron analizados mediante el software STATISTICA® 8 utilizando estadística no paramétrica. Se empleó el método de correlación de Spearman para identificar o descartar correlaciones en la concentración temporal de las hormonas entre sí, con los milímetros de lluvia a los que estuvieron expuestos, en algunos casos se compararon las concentraciones hormonales entre excrementos diferentes de un mismo individuo.

RESULTADOS²

Resultados de la Temporada de Lluvia- PNSN- Julio 2010

Las condiciones de humedad se resumen en el cuadro 2. La cantidad total de lluvia durante el periodo de estudio fue de 486.791 milímetros, la temperatura promedio fue de 20.2° centígrados.

Cuadro 2. Datos atmosféricos registrados en el PNSN durante la temporada de lluvia.

Grupos de excrementos	Días expuestos a la intemperie	Exposición total a mm de lluvia	Promedio de exposición de mm por grupo
A	30	487.807	16.26 mm/día.
B	28	477.393	17.04 mm/día.
C	25	314.833	12.59 mm/día.
D	22	303.657	13.80 mm/día.
E y F	19	268.859	14.15 mm/día.

Fuente: Elaboración propia con base en registros de campo.

² Manuscrito: Variación temporal y espacial de la concentración de hormonas esteroides sexuales en excrementos de puma y jaguar. Enviado para su publicación en la Revista de Biología Tropical/International Journal of Tropical Biology. Ver Anexos.

Cuadro 3. Información de los excrementos utilizados durante la temporada de lluvia, PNSN, 2010.

	Excremento de:	Tipo de excremento:	Utilizado para:	Fecha de colecta:	Día colocado en el área de estudio:	Antigüedad (días):
GRUPO A	Jaguar Macho Juvenil	Semisólida	Degradación Física	29/06/2010	1/07/2010	2
	Jaguar Hembra Adulta	Segmentos cilíndricos				
	Jaguar Macho Adulto	Diarrea con bordes irregulares				
	Puma Macho Adulto	Segmentos cilíndricos poco diferenciables				
	Puma Hembra Adulta	Segmentos sólidos poco diferenciables				
	Puma Hembra Juvenil	Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente				
GRUPO B	Jaguar Macho Juvenil	Segmentos cilíndricos	Degradación Hormonal	3/07/2010	3/07/2010	0
	Jaguar Hembra Adulta					
	Jaguar Macho Juvenil	Segmentos sólidos poco diferenciables	Degradación Física	2/07/2010		1
	Jaguar Hembra Adulta	Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente				
	Jaguar Macho Adulto	Segmentos cilíndricos poco diferenciables				
	Puma Macho Adulto	Diarrea con bordes irregulares				
GRUPO C	Jaguar Macho Juvenil	Segmentos sólidos poco diferenciables	Degradación Física	4/07/2010	6/07/2010	2
	Jaguar Hembra Adulta	Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente				
	Jaguar Macho Adulto	Diarrea con bordes irregulares				
	Puma Hembra Juvenil	Segmentos sólidos poco diferenciables		3/07/2010		3
	Puma Macho Adulto	Segmentos cilíndricos				
	Puma Macho Adulto*	Segmentos sólidos poco diferenciables				
GRUPO D	Jaguar Macho Juvenil	Segmentos cilíndricos	Degradación Hormonal	7/07/2010	9/07/2010	2
	Jaguar Hembra Adulta					
	Puma Macho Adulto	Segmentos sólidos poco diferenciables		9/07/2010		0
	Jaguar Macho Juvenil	Segmentos cilíndricos				
	Puma Hembra Adulta					
GRUPO E	Puma Macho Adulto	Semisólida	Degradación Física	11/07/2010	12/07/2010	1
	Puma Hembra Adulta	Segmentos cilíndricos		10/07/2010		2
	Jaguar Macho Juvenil	Segmentos sólidos poco diferenciables				
	Jaguar Hembra Adulta	Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente	Degradación Hormonal	12/07/2010		0
	Puma Macho Adulto	Segmentos cilíndricos				
	Puma Macho Adulto*					
GRUPO F	Jaguar Hembra Adulta		Degradación Física	9/07/2010	12/07/2010	3
	Jaguar Macho Adulto	Diarrea con bordes circulares u ovalados.		10/07/2010		2
	Jaguar Hembra Adulta*	Segmentos cilíndricos poco diferenciables				
	Jaguar Macho Adulto*	Diarrea con bordes circulares u ovalados.		9/07/2010		3
	Puma Macho Adulto	Segmentos sólidos poco diferenciables		10/07/2010		2
	Puma Macho Adulto	Segmentos cilíndricos		9/07/2010		3
	Puma Hembra Juvenil	Segmentos cilíndricos poco diferenciables				

Fuente: Elaboración propia

Nota: Los excrementos marcados con (*) corresponden a excrementos diferentes del mismo animal colectados una misma ocasión.

Degradación Hormonal

Resultados de la concentración hormonal en los excrementos durante el periodo de monitoreo.

Cuadro 4. Concentración hormonal de progesterona, en todos los excrementos de estudio durante la temporada de lluvia.

Concentración hormonal de progesterona (ng/gr) en excrementos.						
Corte	JHA, GB	JMJ, GB	JMJ, GD	PHA, GD	PMA, GE	PMA2, GE
1	41.33	21.4	70.42	954.84	558.68	171.65
2	21.25	39.44	52.12	168.75	29.05	87.74
3	32.31	33.59	85.92	56 520.4	84.15	10.5
4	36.9	34.77	3 344.8	539.65	386.98	38.22
5	45.19	49.27	113.83	766.67	10.93	27.97
6	25.3	41.34	1 089.36	295.17	32.19	41.95
7	1 866.18	48.1	75.42	699.46	166.94	82.94
8	562.78	71.03	215 426	707.83	65.59	94.25
9	7.32	29.77	401.74	2 333.83	15.43	74.53
10	33.51	29.14	370 169	1 687.33	83.65	185.45
11	40.83	27.19	176.56	815.96	80.78	
12	15.16	33.37	267.03	436.88	129.15	
13	50.57	27.68	27.11	200.84	72.38	
14			31.35	2 389.87	42.23	
15			67.41	1 726.54		
16			37.67	2 579.41		
17			79.74	9 028.71		
18			35.67	2 179.1		
19			95.49	57 010.9		
20			64.09			
21			93.77			
22			94.49			

JHA= Jaguar Hembra Adulta, MJM= Jaguar Macho Juvenil, PHA= Puma Hembra Adulta, PMA= Puma Macho Adulto, PMA2= Puma Macho Adulto Segundo excremento. GB= Grupo B, GD= Grupo D, GE= Grupo E.

Cuadro 5. Concentración hormonal de testosterona, en todos los excrementos de estudio durante la temporada de lluvia.

Concentración hormonal de testosterona (mg/gr) en excrementos.						
Corte	JHA, GB	JMJ, GB	JMJ, GD	PHA, GD	PMA, GE	PMA2, GE
1	885.07	524.3	1 249.17	1 852.98	280.69	1 559.42
2	577.08	914.07	840.82	869.1	405.56	441.95
3	857.85	645	1 062.86	1 047.01	1 331.32	178.63
4	823.33	701.96	1 498.3	881.46	909.92	582
5	1 182.41	1 148.73	1 826.81	1 773.98	84.26	286.71
6	1 253.18	789.85	1 8359.4	2 943.68	141.25	798.7
7	841.38	1 055.86	681	3 207.03	1 002.35	1 117.21
8	358.57	1 290.51	1 303.2	1 762.17	395.53	1 896.25
9	431.07	573.14	1 471.32	3 065.19	94.87	674.67
10	828.6	595.68	1 034.23	3 534.5	740.54	900.99
11	1 152.17	573.54	1 509.78	3 673.4	1 420.2	
12	386.41	719.53	1 130.88	863.84	1 492.37	
13	1 080.14	590.61	222.27	628.28	782.25	
14			853.85	5 929.07	394.89	
15			584.75	1 905.49		
16			252.62	6 326.47		
17			1 453.33	1 8331.2		
18			301.67	3 168.64		
19			509.12	5 374.84		
20			598.19			
21			590.2			
22			699.49			

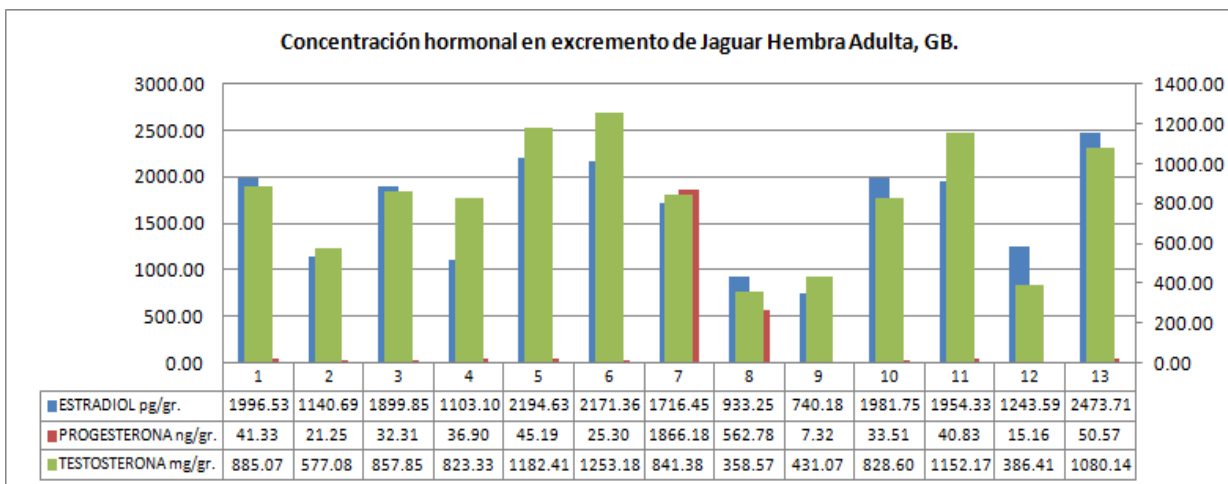
JHA= Jaguar Hembra Adulta, MJM= Jaguar Macho Juvenil, PHA= Puma Hembra Adulta, PMA= Puma Macho Adulto, PMA2= Puma Macho Adulto Segundo excremento. GB= Grupo B, GD= Grupo D, GE= Grupo E.

Cuadro 6. Concentración hormonal de estradiol, en todos los excrementos de estudio durante la temporada de lluvia.

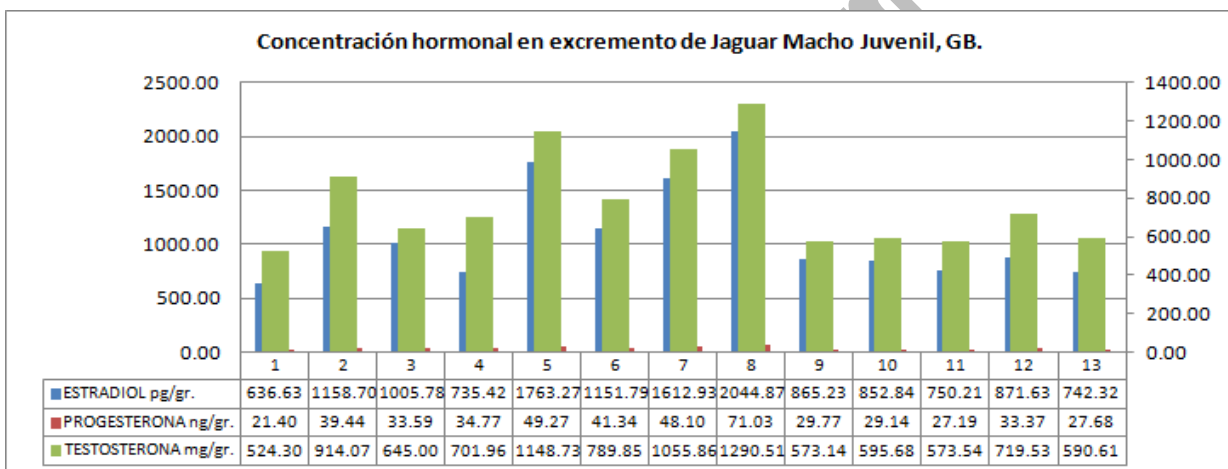
Concentración hormonal de estradiol (pg/gr) en excrementos.						
Corte	JHA, GB	JMJ,GB	JMJ,GD	PHA, GD	PMA, GE	PMA2, GE
1	1 996.53	636.63	278.33	39 277.4	15 951.2	6 309.75
2	1 140.69	1 158.7	722.24	15 831.2	2 375.24	1 396.97
3	1 899.85	1 005.78	1 478.98	48 894.6	4 495.66	137
4	1 103.1	735.42	1 206.2	42 695	13 820.5	No alcanzó el número de reactivos para estas repeticiones.
5	2 194.63	1 763.27	964.26	66 555.6	438.52	
6	2 171.36	1 151.79	3 391.28	124 894	1 308.23	
7	1 716.45	1 612.93	874.42	240 122	11 275.5	
8	933.25	2 044.87	871.56	8 481.49	4 004.61	
9	740.18	865.23	1 439.75	15 565.9	479.09	
10	1 981.75	852.84	1 941.83	24 075.7	2 722.84	
11	1 954.33	750.21	1 492.15	30 744.7	4 321.18	
12	1 243.59	871.63	1 082.64	23 031.4	4 057.29	
13	2 473.71	742.32	398.04	14 316.7	2 022.5	
14			1 781.35	72 781.9	895.96	
15			1 860.65	26 021		
16			432.14	73 897.1		
17			2 161.28	205 886		
18			455.58	32 313.6		
19			781.57	137 148		
20			1 423.15			
21			739.47			
22			1 238.98			

JHA= Jaguar Hembra Adulta, MJM= Jaguar Macho Juvenil, PHA= Puma Hembra Adulta, PMA= Puma Macho Adulto, PMA2= Puma Macho Adulto Segundo excremento. GB= Grupo B, GD= Grupo D, GE= Grupo E.

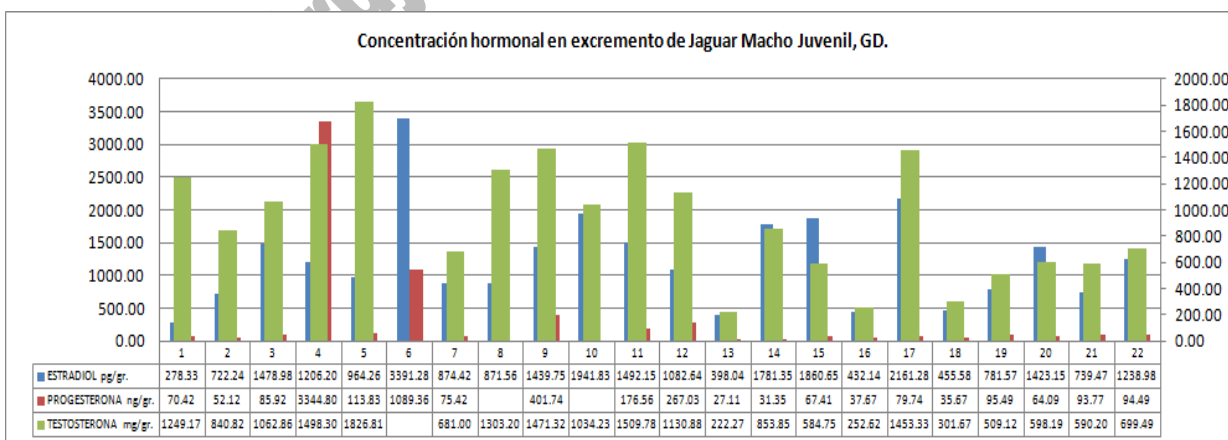
Los resultados de las concentraciones hormonales por excremento durante la temporada de lluvia se muestran a continuación.



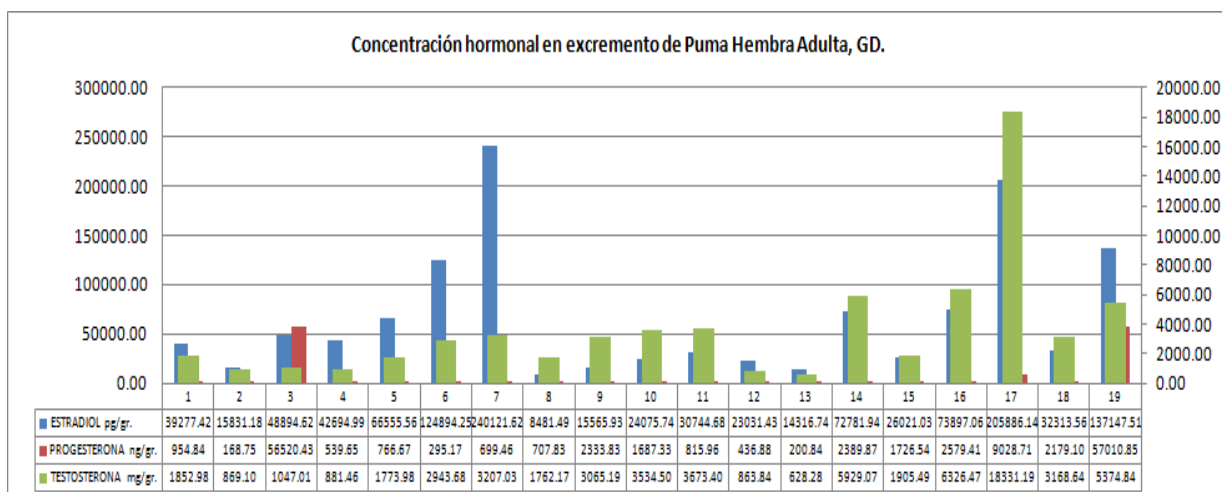
Grafica 1. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar hembra adulta.



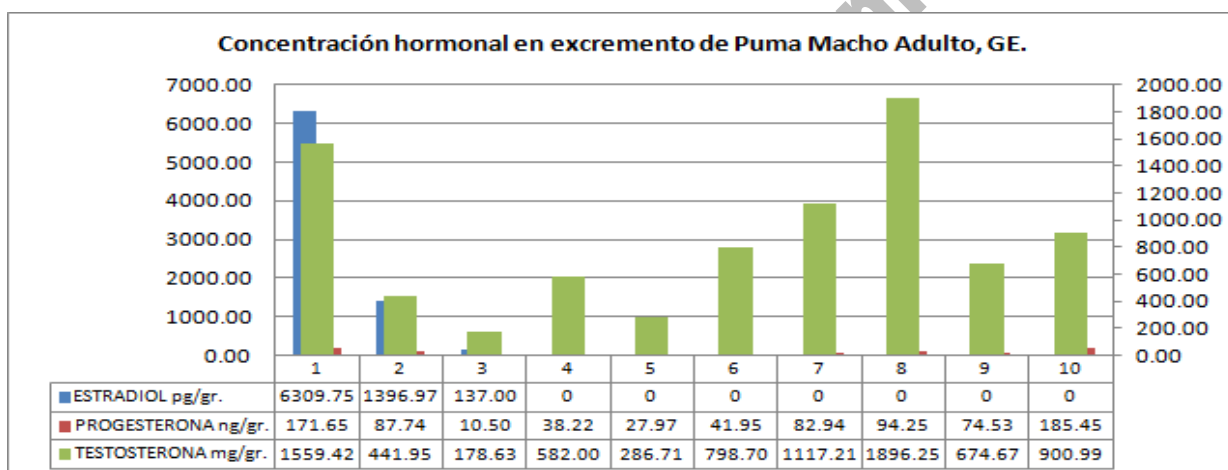
Grafica 2. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar macho juvenil.



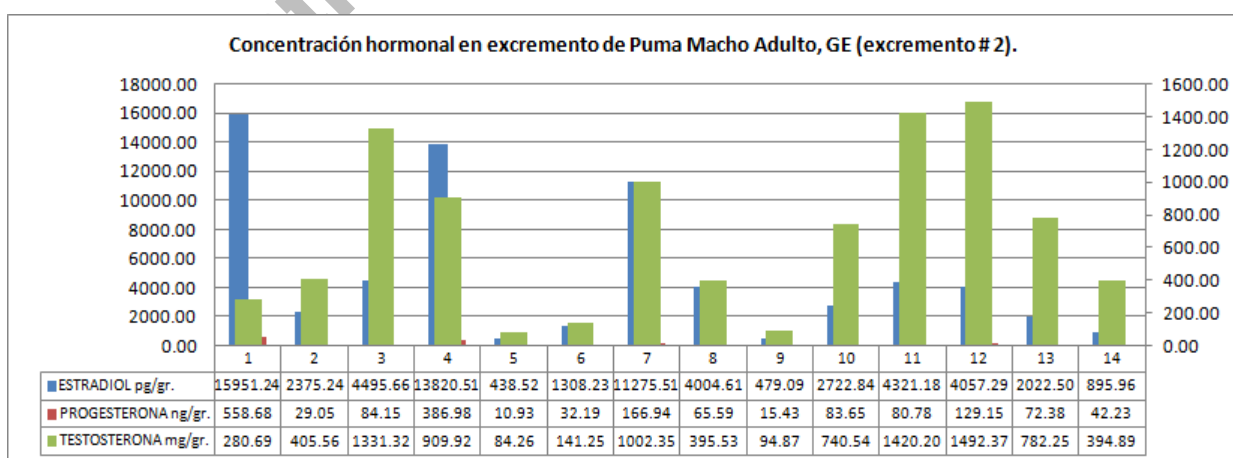
Grafica 3. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar macho juvenil. En la grafica se omitieron los valores de progesterona en las repeticiones 8, 10 y 6 de testosterona debido a las altas concentraciones de las mismas, distorsionan la proporción de la grafica.



Grafica 4. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma hembra adulta.



Grafica 5. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma macho adulto, como se señala en la tabla, sólo se cuantificó estradiol en 3 repeticiones.



Grafica 6. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma macho adulto.

Correlación entre hormonas y precipitación pluvial en época de lluvia

Se realizó el análisis de correlación entre los comportamientos hormonales temporales de las hormonas de cada excremento, con los mm de lluvia a los que estuvieron expuestos. De los 18 pares de datos correlacionados 9 fueron negativas (los valores oscilaban desde -.05 hasta -0.01) y las otras 9 fueron positivas en este caso los valores oscilaron entre 0.005 hasta 0.26, lo cual indica correlación positiva débil.

villafanetrujillo85@gmail.com© 2012

Degradación Física

Los resultados se encuentran respaldados por los registros fotográficos de cada excremento. La información se presenta en imágenes, consultar Anexos.

Para realizar el monitoreo de la degradación física progresiva de los excrementos, se agruparon las principales observaciones respecto a la forma del excremento, el tipo de superficie que tenía, los colores presentes en la superficie y la descripción sobre la forma cómo se descomponían paulatinamente. Los excrementos fueron clasificados y agrupados de acuerdo con la forma que tenían y los cambios que presentaban al estar expuestos a la precipitación pluvial y temperatura ambiental, fueron divididos en tres principales grupos. Ver cuadro 10.

Cuadro 7. Clasificación de los excrementos a partir de sus características morfológicas.

CONSISTENCIA	TIPO DE EXCREMENTO	DESCRIPCIÓN
SÓLIDOS	Segmentos cilíndricos	Según la descripción realizada por Aranda (2000), son segmentos cilíndricos de superficie lisa de 15 a 30 cm de largo y 3.5 de alto aproximadamente, posicionados horizontalmente. Presentan una coloración variable.
	Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente.	Segmentos cilíndricos colocados uno sobre otro, las partes más expuestas se degradan a mayor velocidad mientras que las partes menos expuestas como la superficie pierden humedad a un ritmo más lento.
	Segmentos cilíndricos poco diferenciados.	Segmentos sólidos con un contorno irregular pero con una forma cilíndrica.
	Segmentos sólidos poco diferenciados (no cilíndricos).	Segmentos sólidos con un contorno y superficie irregular.
DIARREA*	Diarrea con bordes circulares u ovalados.	Es una diarrea en forma circular, en este caso ninguno de sus bordes está expuesto, conforme se descompone los bordes se reducen y la superficie se contrae.
	Diarrea con bordes irregulares/no circulares.	Es una diarrea con bordes expuestos, la diferencia con el otro tipo de diarrea es que en este caso los bordes con menor cantidad de materia fecal se reducen a una velocidad mayor que el resto de la muestra, por lo que este excremento puede tener al mismo tiempo partes oscuras y partes opacas y/o porosas.
SEMISÓLIDOS	Es una mezcla de diarrea con segmentos sólidos.	La velocidad y características de la degradación física dependen de cada uno de las diferentes características morfológicas que presente el excremento.

Fuente: Elaboración propia

* La diarrea es una disminución de la consistencia del excremento, esto se debe a que la muestra tiene demasiada humedad, una alta concentración de lípidos o una alteración en el proceso digestivo.

Cuadro 8. Tipos de superficie de los excrementos monitoreados.

SUPERFICIE DEL EXCREMENTO*	CARACTERÍSTICAS
LISA	Sólo se observó este tipo de superficie en excrementos cilíndricos y frescos. La superficie del excremento es totalmente lisa, dura pocos días (menos de cuatro).
AGRIETADA	Se observó este tipo de superficie en todos los tipos de excrementos, excepto en las diarreas. Las grietas se forman por la fragmentación del excremento debido a la pérdida de humedad. No se consideran grietas a los espacios que hay entre los segmentos del excremento cuando es depositado por el felino.
POROSA	La superficie del excremento tiene pequeños huecos en las partes más secas, un ejemplo adecuado es la superficie de una piedra pómez, la superficie porosa está asociada a las partes más secas del excremento.

Fuente: Elaboración propia.

* En el caso de la diarrea la superficie es irregular, amorfa y muy particular en cada uno de los casos, por lo que no entra en la clasificación realizada.

Cuadro 9. Síntesis de las semejanzas y diferencias entre los diferentes tipos de excremento.

Tipo de excremento	Segmentos cilíndricos	Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente	Segmentos cilíndricos poco diferenciables	Segmentos sólidos poco diferenciables (no cilíndricos)	Diarrea con bordes circulares u ovalados	Diarrea con bordes irregulares/no circulares	Semiosólidos
Segmentos cilíndricos	Segmentos cilíndricos de superficie lisa posicionados horizontalmente.	Morfológicamente se trata del mismo tipo de segmentos pero en lugar de estar distribuidos horizontalmente están colocados unos sobre otros.	Los bordes del excremento son diferentes entre sí, ambos son cilíndricos, en un caso los bordes son lisos, mientras que en otro son irregulares.	La diferencia se encuentra en la forma general, superficie y bordes de las muestras, son diferentes en ambos grupos.	La morfología entre excrementos es totalmente diferente entre sí, en el grupo de los segmentos los cuatro excrementos son diferentes entre sí pero son sólidos mientras que la diarrea es una masa irregular y acuosa.		Al tratarse de una combinación entre diarrea y segmentos sólidos, la morfología de estos últimos puede ser cualquiera de las 4 formas de segmentos sólidos y cualquiera de las 2 tipos de diarrea.
Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente	Morfológicamente se trata del mismo tipo de segmentos pero en lugar de estar distribuidos horizontalmente están colocados unos sobre otros.	Segmentos cilíndricos de superficie lisa, colocados uno sobre otro.	Los bordes de ambos tipos de excrementos son diferentes entre sí.	La forma general, superficie y bordes de las muestras, son diferentes en ambos grupos.			
Segmentos cilíndricos poco diferenciables	Los bordes del excremento son diferentes entre sí, ambos son cilíndricos, en un caso los bordes son lisos, mientras que en otro son irregulares.	Los bordes de ambos tipos de excrementos son diferentes entre sí.	Segmentos sólidos con un contorno irregular pero con una forma cilíndrica.	El tipo de superficie y bordes entre excrementos es el mismo, pero la forma general es diferente entre grupos.			
Segmentos sólidos poco diferenciables (no cilíndricos)	La diferencia se encuentra en la forma general, superficie y bordes de las muestras, son diferentes en ambos grupos.	La forma general, superficie y bordes de las muestras, son diferentes en ambos grupos.	El tipo de superficie y bordes entre excrementos es el mismo, pero la forma general es diferente entre grupos.	Segmentos sólidos con un contorno y superficie irregular.			
Diarrea con bordes circulares u ovalados	La morfología entre excrementos es totalmente diferente entre sí, en el grupo de los segmentos los cuatro excrementos son diferentes entre sí pero son sólidos mientras que la diarrea es una masa irregular y acuosa.				Es una diarrea en forma circular ninguno de sus bordes está expuesto	La única diferencia consiste en la forma de los bordes, dependiendo del tipo estos será la forma y velocidad en que se degraden ante las variables climáticas.	
Diarrea con bordes irregulares/no circulares					La única diferencia consiste en la forma de los bordes, dependiendo del tipo estos será la forma y velocidad en que se degraden ante las variables climáticas	Es una diarrea con bordes expuestos.	
Semiosólidos	Al tratarse de una combinación entre diarrea y segmentos sólidos, la morfología de estos últimos puede ser cualquiera de las 4 formas de segmentos sólidos y cualquiera de las 2 tipos de diarrea.						Es una mezcla de diarrea con segmentos sólidos.

Colores presentes en los excrementos

Identificar la coloración del excremento presenta inconvenientes que son mencionados más adelante, la clasificación de colores (aspecto cualitativo) surgió del criterio subjetivo y se realizó a partir de las observaciones durante cada uno de los días de monitoreo. Se encuentran respaldadas por el registro fotográfico de cada excremento. Los colores fueron clasificados en 4 grupos diferentes.

Es importante subrayar que las clasificaciones de color tienen un significado general, pero la interpretación de las 4 categorías debe realizarse de forma individual. Esto significa que al analizar un excremento el color más intenso será clasificado como el color oscuro, a partir de ese parámetro se establece un punto de origen y de esa forma es como se agrupan los colores presentes en el excremento en las 4 categorías propuestas (por lo tanto no es adecuado o correcto comparar colores entre excrementos diferentes), es necesario realizar este proceso cada vez que se pretenda clasificar y analizar los colores en un excremento.

✓ Color Oscuro (puede ser negro o café)

Generalmente es un indicador de la cantidad de humedad que tienen el excremento, entre más oscura esté la superficie del excremento, tiene más humedad y está más fresco.

✓ Superficie con apariencia Brillosa

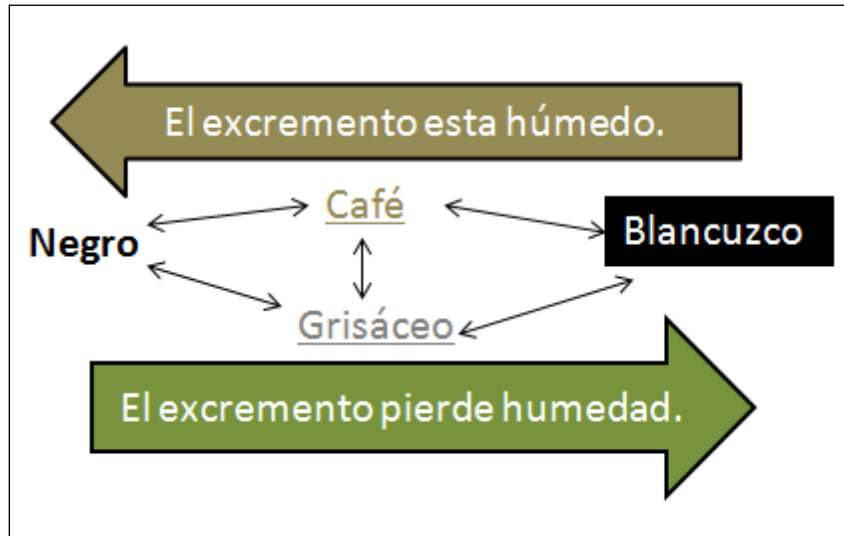
Cualidad indistinta del color del excremento (el cual puede ser negro o café), puede estar presente en cualquier tipo de excremento (segmentos cilíndricos, diarrea o una combinación de los dos anteriores), la superficie brillante esta en las partes más frescas del excremento sin importar el tipo de forma que tengan, las observaciones indican que esta característica sólo dura los primeros 4 días. Cuando los excrementos están mojados la superficie es brillante pero esto se debe a la refracción de luz que provoca el agua, cuando los excrementos se secan, pierden esta cualidad, por lo tanto no confundir estos casos con la superficie brillante de un excremento cuando es depositado por el felino.

✓ Color Opaco (puede ser color café claro o un color grisáceo)

Coloración intermedia del excremento, ocurre cuando la superficie ha perdido humedad y ya no es oscura pero aún no llega a tener una coloración blancuzca, por lo tanto se trata de la fase intermedia en la pérdida de humedad, el excremento ya no es fresco pero aún no está totalmente seco. Los colores opacos están asociados a trozos con poca humedad y a las partes más expuestas del excremento.

✓ Color Blancuzco (totalmente blanco)

El excremento tiene muy poca humedad o ya está seco, la superficie puede ser porosa y/o agrietada.



Esquema 1. Cambios en los colores del excremento dependiendo de la humedad. Estos cambios sólo ocurren en los 4 excrementos sólidos y en ocasiones en la porción sólida del excremento semisólido

Fotografías que ejemplifican los cambios en los colores del excremento al estar en contacto con humedad. La antigüedad de las fotografías es en orden ascendente.



Fotografía 4. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos.



Fotografía 5. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente.



Fotografía 6. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos poco diferenciables.



Fotografía 7. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos sólidos poco diferenciables.



Fotografía 8. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Diarrea con bordes circulares u ovalados.



Fotografía 9. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Diarrea con bordes irregulares.



Fotografía 10. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Semisólido.

Análisis de residuos de dieta

En los excrementos se encontraron fragmentos de huesos, tejido conectivo (carne), pelos (la dieta de los felinos consiste en carne sin pelo de res o caballo, pero no debe olvidarse que los felinos se acicalan) y pasto. Los cuales fueron clasificados como **Residuos de dieta**. Se observó cuales fueron los efectos producidos sobre el excremento al descomponerse.

Los cuatro diferentes residuos de dieta tienen una velocidad de descomposición diferente entre sí, también una capacidad de absorción de humedad diferente, el pelo y el pasto son los que más humedad absorben.

El pelo en grandes cantidades ayuda a mantener/conservar la forma del excremento aún cuando el proceso de degradación física está en etapa avanzada.

El pasto, tejido conectivo y pelo (en grandes cantidades) por lo general retienen humedad y la liberan/pierden más lentamente que la materia fecal, por lo tanto el excremento que está en contacto directo con residuos de dieta húmedos o mojados, permanece oscuro u opaco cuando el resto del excremento ya está seco.

Los pedazos de huesos nunca cambian de color y no absorben agua.

El tejido conectivo tiene un color cambiante el cual depende del estado de descomposición en el que se encuentre y en la cantidad de agua que pueda absorber cuando llueve, el tejido conectivo puede tener un color grisáceo, blanco, naranja, negro, café o una combinación de dos o más colores, esto depende si se trata de tendón, ligamento o carne y de la cantidad de humedad que tenga.

Observaciones generales temporada de lluvia

- En algunos excrementos con forma de segmentos cilíndricos, cuando el excremento estaba agrietado y absorbía mucha agua el volumen aumentaba ligeramente, sólo lo suficiente para que las grietas del excremento disminuyeran.
- El criterio en la tabla de clasificación correspondiente a “El volumen de la superficie aumenta”, ocurre cuando una diarrea o excremento semisólido

absorbe humedad, el color se oscurece y las grietas desaparecen (dependiendo del tamaño de éstas) pero al absorber agua, se dilata, por lo tanto la superficie se modifica ligeramente.

- En los excrementos con forma de segmentos, los pequeños huecos/espacios entre segmentos se mantienen oscuros (al estar menos expuestos pierden humedad más lentamente) mientras que el resto de la muestra tiene una coloración blanquizca. En las diarreas con bordes irregulares o expuestos se secan más rápido que el resto de la muestra y cambian de color, mientras que el resto del excremento conserva una coloración oscura.
- Cuando el pasto está seco es mucho más fácil de distinguir pero al mojarse el pasto se oscurece y es difícil diferenciarlo del excremento.
- En ocasiones hay partes del excremento que aunque no tengan cambios se distinguen más al día siguiente, esto se debe a que los residuos de dieta (cuando ya están expuestos) pierden humedad y resaltan al secarse.
- Cuando el excremento seco se hidrata, el volumen de la superficie aumenta un poco, al perder humedad la superficie se reduce nuevamente.
- Los surcos (grietas/huecos) menos expuestos a la intemperie pierden humedad y cambian de color más lentamente que las partes más expuestas del excremento.
- En los excrementos con forma de segmentos, conforme el excremento se va mojando y secando las grietas se hacen más grandes, en algunos casos con el paso de los días el excremento empieza a fragmentarse, este proceso se ve influenciado por el hecho de manipular los marcos para el registro fotográfico.
- Conforme el excremento blanco se moja adquiere un color oscuro o grisáceo (dependiendo del color que tenía antes de llover) con el paso de los días si no hay humedad el excremento se seca y el color cambia paulatinamente hasta que es blanco nuevamente.
- El color oscuro que tiene el excremento cuando esta mojado es diferente al color oscuro que tiene cuando está seco, a pesar de que el excremento se oscurece nuevamente, el color es menos intenso de cómo fue inicialmente.
- Los excrementos clasificados como diarrea tuvieron cambios en los colores presentes en su superficie pero nunca cambiaron hasta presentar una coloración blanquizca, debido a que la diarrea es una masa amorfa y está poco expuesta, sus características fisiológicas se conservan durante más tiempo.
- Cuando el excremento se está secando adquiere un color opaco y/o blanquizco, pero si hay pequeñas partes oscuras en el excremento, las observaciones indican que esto se debe a que:
 - Las partes menos expuestas del excremento (grietas, huecos y/o base del excremento) pierden humedad más lentamente que el resto de la muestra que está expuesta a las condiciones climatológicas del ambiente.
 - La base del excremento está menos expuesta (en el caso de excrementos cilíndricos acomodados verticalmente) y generalmente es oscura cuando el resto de la muestra ya está seca (temporada de lluvia).

Resultados de la temporada seca- Temascaltepec- Febrero-Marzo 2011

El 16 de marzo hubo una ligera llovizna durante la tarde, duró menos de diez minutos, la cantidad de milímetros de lluvia no se cuantificó por ser mínima, los excrementos apenas se humedecieron, los cambios de los excrementos al estar expuestos a humedad se aprecian claramente en las fotografías del día 17 de Marzo de 2011.

Durante el tiempo de monitoreo la temperatura promedio fue de 26.6° centígrados.

Cuadro 10. Tiempo de exposición según grupo de excrementos.

Grupos de excrementos	Días expuestos a la intemperie
A y B	28
C, D y E	24
F	21
G	18

Fuente: Elaboración propia, según registros de campo.

Cuadro 11. Información de excrementos utilizados en la temporada seca, Temascaltepec, 2011.

	Excremento de:	Tipo de excremento:	Utilizado para:	Fecha de colecta:	Día colocado en el área de estudio:	Antigüedad (días)		
GRUPO A	Puma Hembra Juvenil	Segmentos cilíndricos	Degradación Física	23/2/2011	26/2/2011	3		
	Puma Hembra Adulta							
	Jaguar Hembra Adulta							
	Jaguar Macho Juvenil	Segmentos cilíndricos poco diferenciables		25/2/2011		1		
	Jaguar Macho Adulto	Segmentos cilíndricos						
	Puma Macho Adulto	Segmentos cilíndricos poco diferenciables						
	Puma Hembra Juvenil*	Semisólida						
	Jaguar Hembra Adulta*	Segmentos cilíndricos						
	Jaguar Macho Adulto*	Segmentos sólidos poco diferenciables.						
	Jaguar Macho Juvenil*	Segmentos sólidos poco diferenciables.						
GRUPO B	Puma Hembra Adulta	Segmentos cilíndricos	Degradación Hormonal	26/2/2011		0		
	Puma Macho Adulto							
	Jaguar Macho Juvenil							
GRUPO C	Puma Macho Adulto	Segmentos sólidos poco diferenciables	Degradación Física	27/2/2011	2/3/2011	3		
	Puma Hembra Adulta	Segmentos cilíndricos poco diferenciables						
	Jaguar Hembra Adulta	Segmentos sólidos poco diferenciables						
	Jaguar Macho Adulto*	Segmentos cilíndricos						
	Jaguar Macho Adulto	Segmentos cilíndricos poco diferenciables						
	Jaguar Hembra Adulta*	Segmentos cilíndricos poco diferenciables						
GRUPO D	Jaguar Macho Juvenil	Segmentos cilíndricos	Degradación Física	01/3/2011	2/3/2011	1		
	Puma Macho Adulto							
GRUPO E	Puma Macho Adulto			Degradación Hormonal		02/3/2011		0
	Jaguar Macho Adulto							
	Puma Hembra Juvenil							
GRUPO F	Jaguar Hembra Adulta			Diarrea con bordes circulares u ovalados.		Degradación Física	01/3/2011	05/3/2011
	Jaguar Macho Juvenil	Segmentos sólidos poco diferenciables	05/3/2011	0				
	Jaguar Hembra Adulta*	Segmentos sólidos poco diferenciables			Degradación Hormonal			
	Puma Hembra Adulta	Segmentos cilíndricos						
GRUPO G	Jaguar Hembra Adulta	Diarrea**	Degradación Física	08/3/2011	09/3/2011	1		
	Jaguar Macho Adulto	Segmentos cilíndricos poco diferenciables						
	Jaguar Macho Adulto*							
	Puma Macho Adulto							
	Puma Hembra Adulta						Segmentos cilíndricos	

Fuente: Elaboración propia

Nota: Los excrementos marcados con (*) corresponden a excrementos diferentes del mismo animal colectados una misma ocasión. ** El excremento del Grupo G de jaguar hembra adulta está clasificada como "Diarrea con bordes circulares u ovalados", se abrevio por cuestión de espacio.

Degradación Hormonal

Resultados de la concentración hormonal en los excrementos durante el periodo de monitoreo.

Cuadro 12. Concentración hormonal de progesterona, en todos los excrementos de estudio durante la temporada seca.

Concentración hormonal de progesterona (ng/gr) en excrementos.					
Corte	PMA, GB	JMJ, GB	JMA, GE	PHJ, GE	PHA, GF
1	344.44	233.85	382.61	158.18	351.61
2	247.44	153.49	547.62	588.57	162.5
3	157.58	225.64	345	452.78	343.75
4	269.65	167.95	453.97	351.43	235.35
5	112.22	701.96	171.59	198.41	1 023.53
6	340.2	260.61	343.33	408	8 355.93
7	627.54	177.78	346.84	830	1 082.93
8	118.99	434.69	245.45	245.16	1 228.57
9	158.71	471.43	142.31	200	405.77
10	240.82	212.96	300	159.86	462.5
11	143.48	172.83	99.34		750
12	92.59	433.33	76.62		498.39
13	141.86	291.18			
14	1 241.38	456.52			

JMJ= Jaguar Macho Juvenil, PHA= Puma Hembra Adulta, PMA= Puma Macho Adulto, JMA= Jaguar Macho Adulto, PHJ= Puma Hembra Juvenil, PHA= Puma Hembra Adulta Puma Macho Adulto Segundo excremento. GB= Grupo B, GE= Grupo E, GF= Grupo F.

Cuadro 13. Concentración hormonal de testosterona, en todos los excrementos de estudio durante la temporada seca.

Concentración hormonal de testosterona (mg/gr) en excrementos.					
Corte	PMA,GB	JMJ,GB	JMA,GE	PHJ,GE	PHA,GF
1	0.16	0.01	0.1	0.01	0.03
2	0.01	0.01	0.04	0.03	0.01
3	0.02	0.01	0.08	0.02	0.02
4	0.07	0.01	0.12	0.02	0.01
5	0.03	0.05	0.04	0.01	0.04
6	0.01	0.01	0.07	0.02	0.34
7	0.11	0.01	0.14	0.07	0.07
8	0.01	0.01	0.07	0.02	0.25
9	0.03	0.01	0.08	0.01	0.1
10	0.01	0.01	0.05	0.04	0.05
11	0.01	0.01	0.04		0.04
12	0.01	0.01	0.07		0.01
13	0.01	0.01			
14	0.45	0.04			

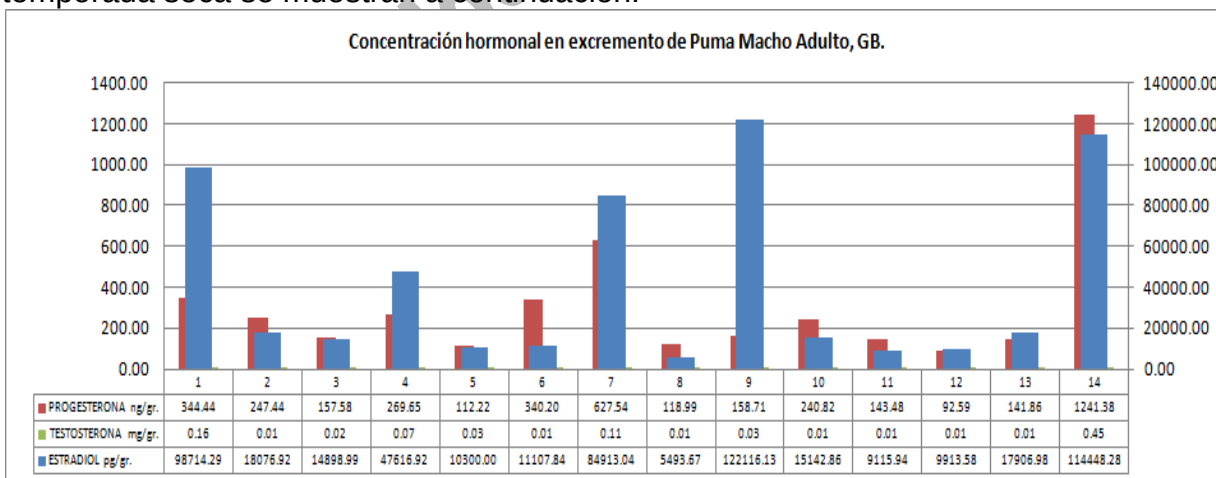
JMJ= Jaguar Macho Juvenil, PHA= Puma Hembra Adulta, PMA= Puma Macho Adulto, JMA= Jaguar Macho Adulto, PHJ= Puma Hembra Juvenil, PHA= Puma Hembra Adulta Puma Macho Adulto Segundo excremento. GB= Grupo B, GE= Grupo E, GF= Grupo F.

Cuadro 14. Concentración hormonal de estradiol, en todos los excrementos de estudio durante la temporada seca.

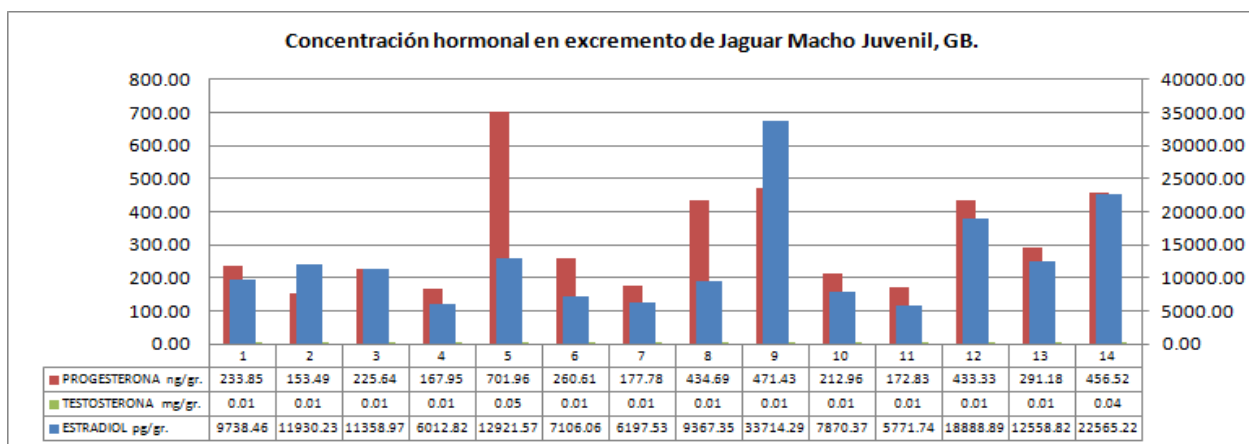
Concentración hormonal de estradiol (pg/gr) en excrementos.					
Corte	PMA, GB	JMJ,GB	JMA, GE	PHJ, GE	PHA, GF
1	98 714.3	9 738.46	32 913	25 072.7	22 798.4
2	18 076.9	11 930.2	31 285.7	49 228.6	9 093.75
3	14 899	11 359	27 550	35 722.2	27 437.5
4	47 616.9	6 012.82	12 285.7	28 228.6	15 656.6
5	10 300	12 921.6	6 806.82	14 222.2	35 088.2
6	11 107.8	7 106.06	16 466.7	26 040	966 559
7	84 913	6 197.53	13 379.8	82 525	249 293
8	5 493.67	9 367.35	10 763.6	16 774.2	1 069 286
9	122 116	33 714.3	5 065.93	13 774.2	185 788
10	15 142.9	7 870.37	17 238.1	14 640.9	76 166.7
11	9 115.94	5 771.74	4 578.95		35 392.9
12	9 913.58	18 888.9	4 009.74		23 629
13	17 907	12 558.8			
14	114 448	22 565.2			

JMJ= Jaguar Macho Juvenil, PHA= Puma Hembra Adulta, PMA= Puma Macho Adulto, JMA= Jaguar Macho Adulto, PHJ= Puma Hembra Juvenil, PHA= Puma Hembra Adulta Puma Macho Adulto Segundo excremento. GB= Grupo B, GE= Grupo E, GF= Grupo F.

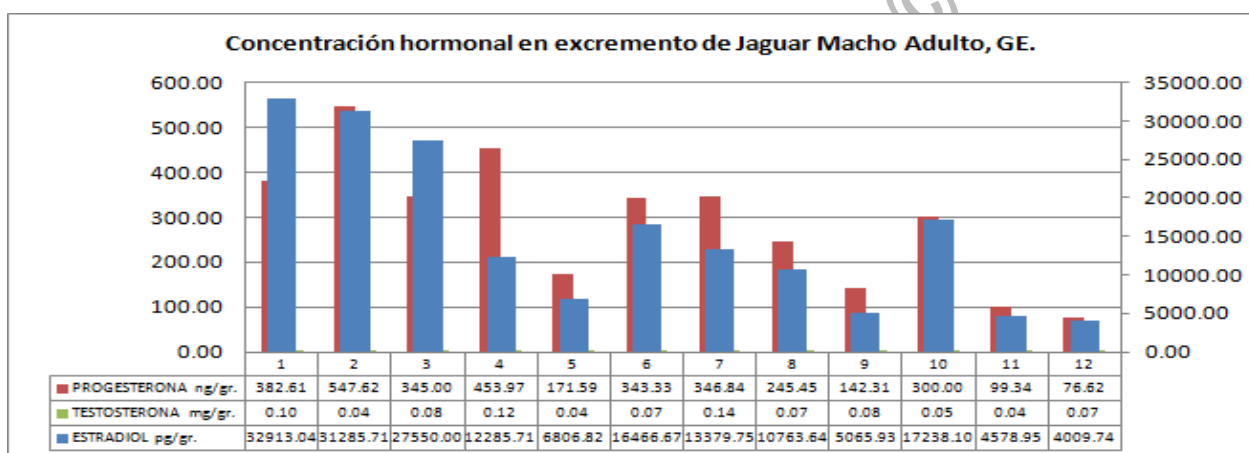
Los resultados de las concentraciones hormonales por excremento durante la temporada seca se muestran a continuación.



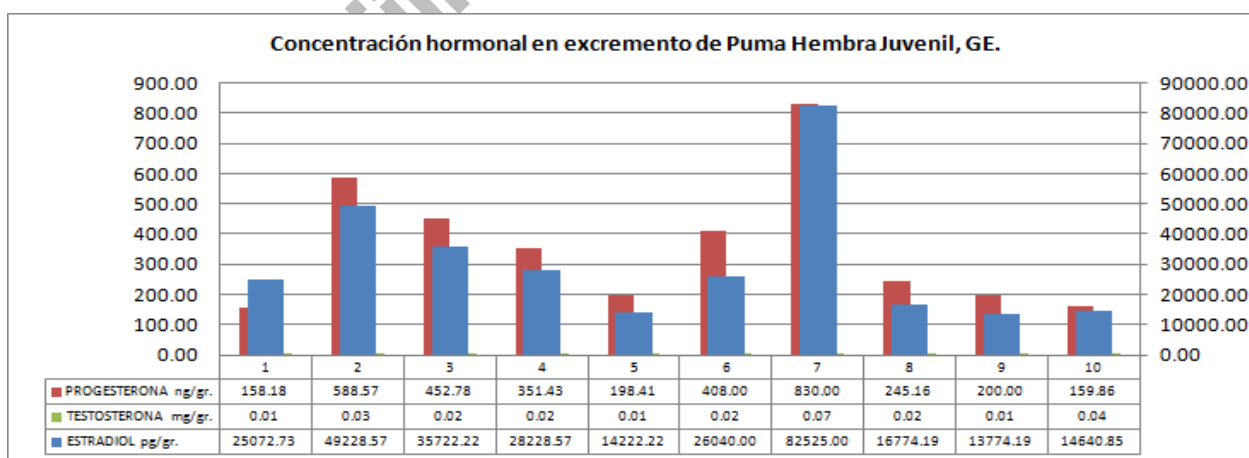
Grafica 7. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma macho adulto.



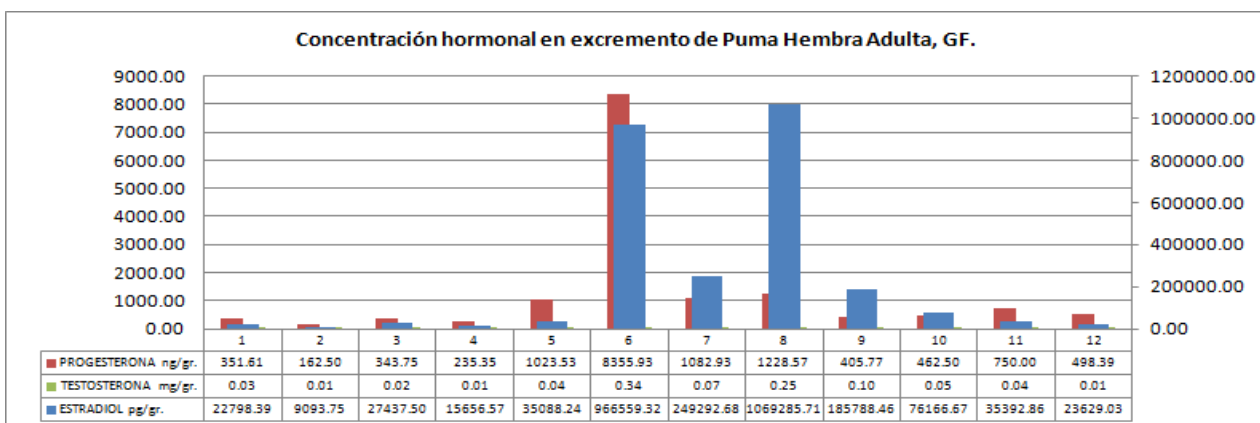
Grafica 8. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar macho juvenil.



Grafica 9. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de jaguar macho adulto.



Grafica 10. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma hembra juvenil.



Grafica 11. Concentración hormonal temporal en diferentes partes de un excremento de puma hembra adulta.

Resultados de las pruebas de laboratorio realizadas en Mayo 2011

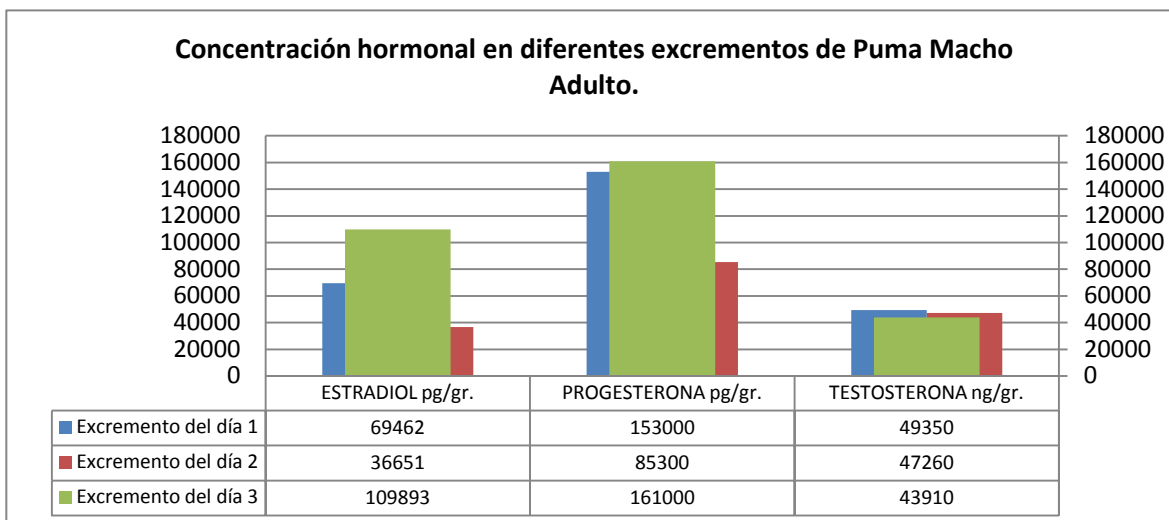
Las limitaciones metodológicas de los siguientes resultados consisten en que los excrementos fueron colectados de forma indiscriminada, no se asociaron a conductas sexuales estereotipadas, aun así se logro corroborar que existen cambios diarios en los niveles de las concentraciones hormonales contenidas en los excrementos.

Cuadro 15. Concentración hormonal en diferentes excrementos de los felinos de estudio.

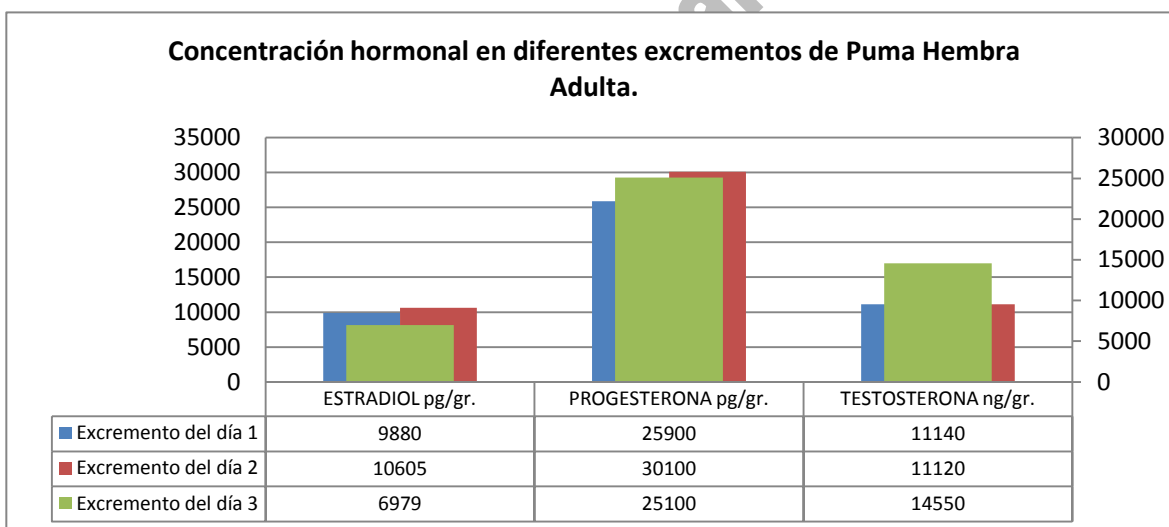
Individuo	HORMONA	Día 1	Día 2	Día 3
Puma macho	PROGESTERONA (pg/gr)	153 000	85 300	161 000
	TESTOSTERONA (ng/gr)	49 350	47 260	43 910
	ESTRADIOL (pg/gr.)	69 462	36 651	109 893
Puma hembra	PROGESTERONA(pg/gr)	25 900	30 100	25 100
	TESTOSTERONA (ng/gr)	11 140	11 120	14 550
	ESTRADIOL (pg/gr)	9 880	10 605	6 979
Jaguar macho	PROGESTERONA (pg/gr)	118 000	24 300	15 800
	TESTOSTERONA (ng/gr)	54 640	19 590	47 530
	ESTRADIOL (pg/gr)	7 639	1 622	2 645
Jaguar hembra	PROGESTERONA (pg/gr)	24 800	142 000	206 000
	TESTOSTERONA (ng/gr)	27 580	47 360	42 160
	ESTRADIOL (pg/gr)	2 433	2 761	4 585

Se observó que hubo un cambio diario en las concentraciones hormonales de los excrementos a intervalos de 24 horas.

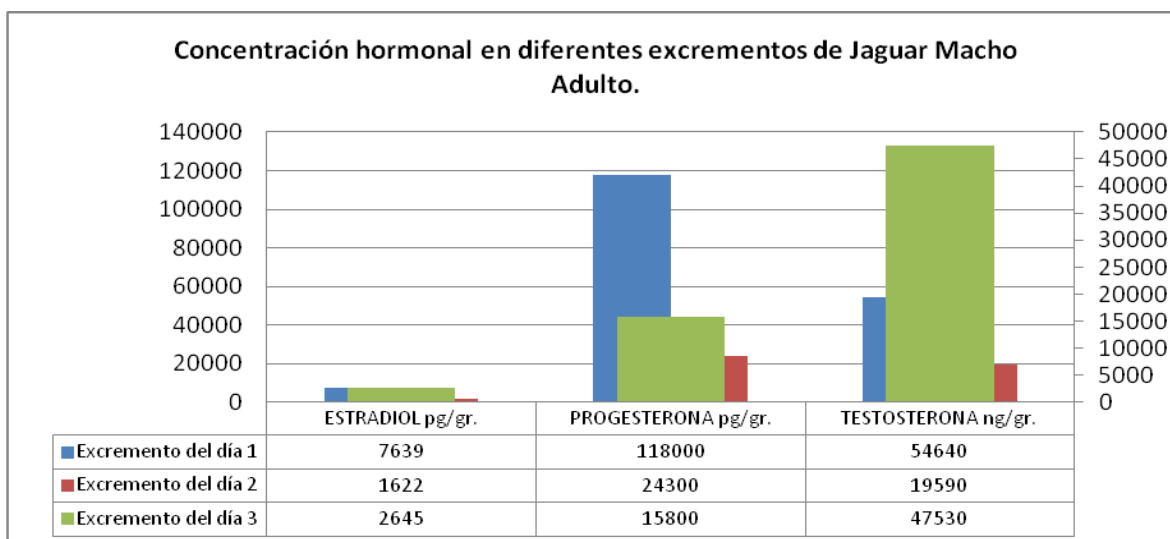
Los resultados de la cuantificación hormonal en los excrementos depositados por pumas y jaguares durante tres días se muestran a continuación.



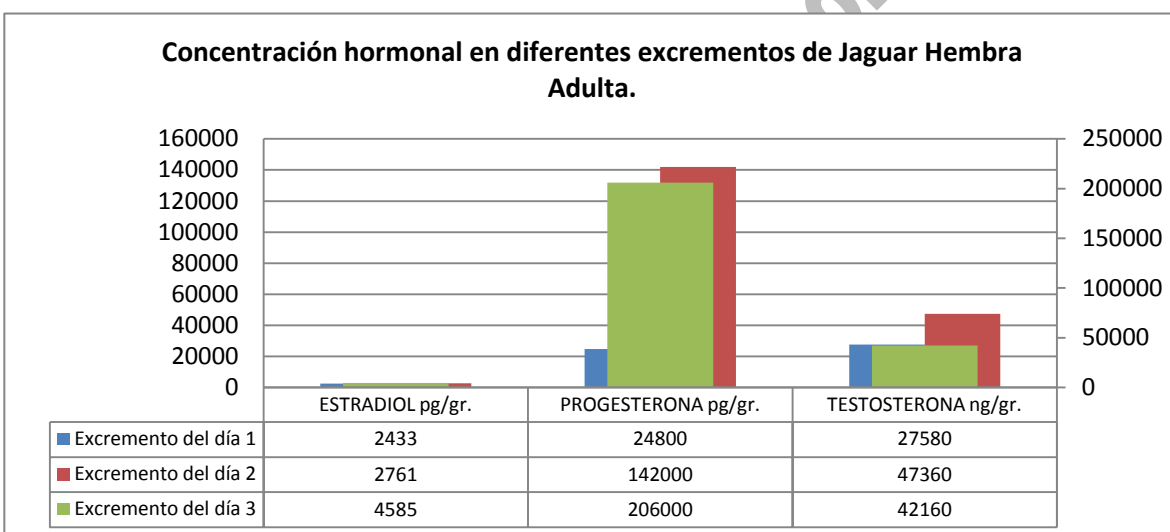
Grafica 12. Resultados de los análisis hormonales realizados en 3 excrementos de puma macho adulto.



Grafica 13. Resultados de los análisis hormonales realizados en 3 excrementos de puma hembra adulta.



Grafica 14. Resultados de los análisis hormonales realizados en 3 excrementos de jaguar macho adulto.



Grafica 15. Resultados de los análisis hormonales realizados en 3 excrementos de jaguar hembra adulta.

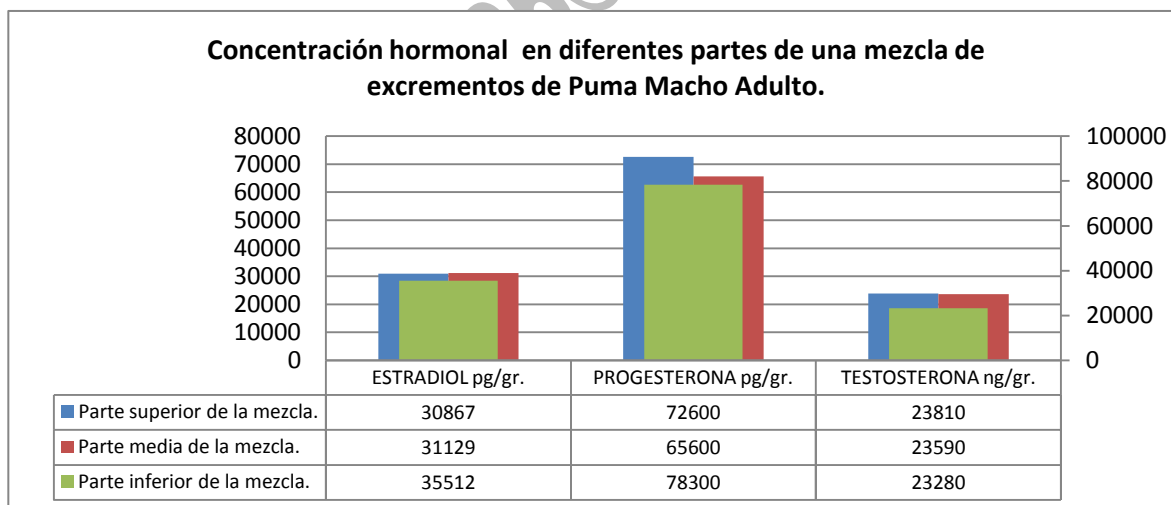
Se observó que hubo un cambio diario en las concentraciones hormonales de los excrementos analizados, a pesar de la falta de una prueba control fue comprobado que las concentraciones hormonales en los excrementos de los felinos de estudio tienen variaciones significativas en intervalos de 24 horas.

Resultados de la cuantificación hormonal en diferentes partes de una mezcla de excrementos

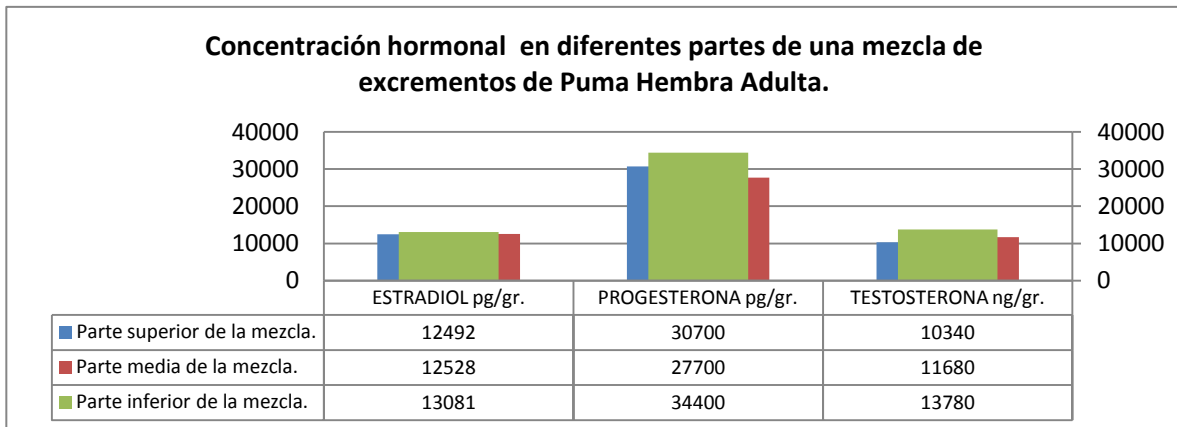
Cuadro 16. Concentración hormonal en diferentes partes de una mezcla de los excrementos depositados durante 3 días por los felinos de estudio.

HORMONA	PARTE DE LA MUESTRA	Puma		Jaguar	
		Macho	Hembra	Macho	Hembra
PROGESTERONA (pg/gr)	Superior	72 600	30 700	42 400	168 000
	Media	6 500	27 700	41 800	174 000
	Inferior	78 300	34 400	46 900	203 000
TESTOSTERONA (ng/gr)	Superior	23 810	10 340	28 550	34 570
	Media	23 590	11 680	32 770	38 930
	Inferior	23 280	13 780	24 920	43 910
ESTRADIOL (pg/gr)	Superior	30 867	12 492	2 462	3 768
	Media	31 129	12 528	2 667	3 192
	Inferior	35 512	13 081	2 927	3 601

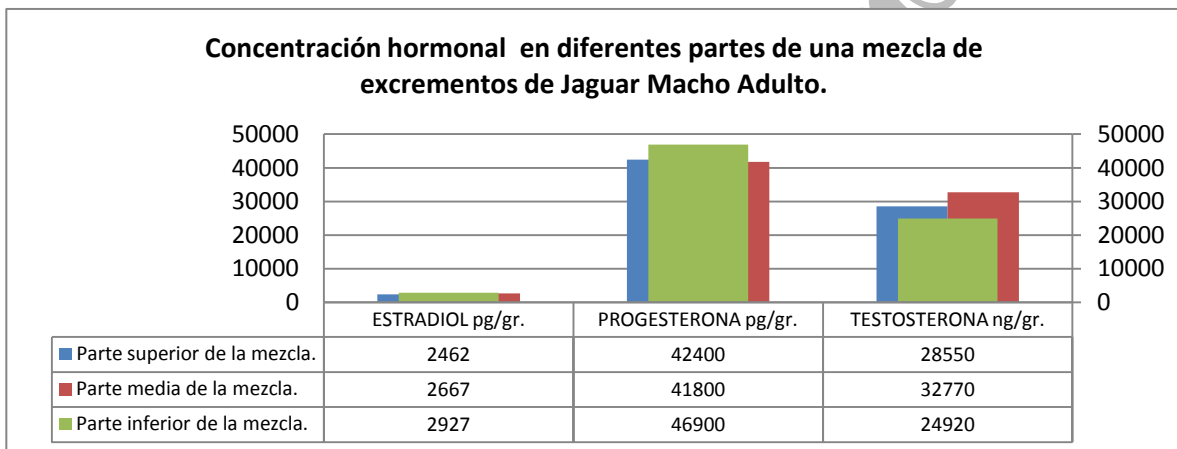
Los resultados de la cuantificación hormonal en los excrementos depositados por pumas y jaguares durante tres días se muestran a continuación.



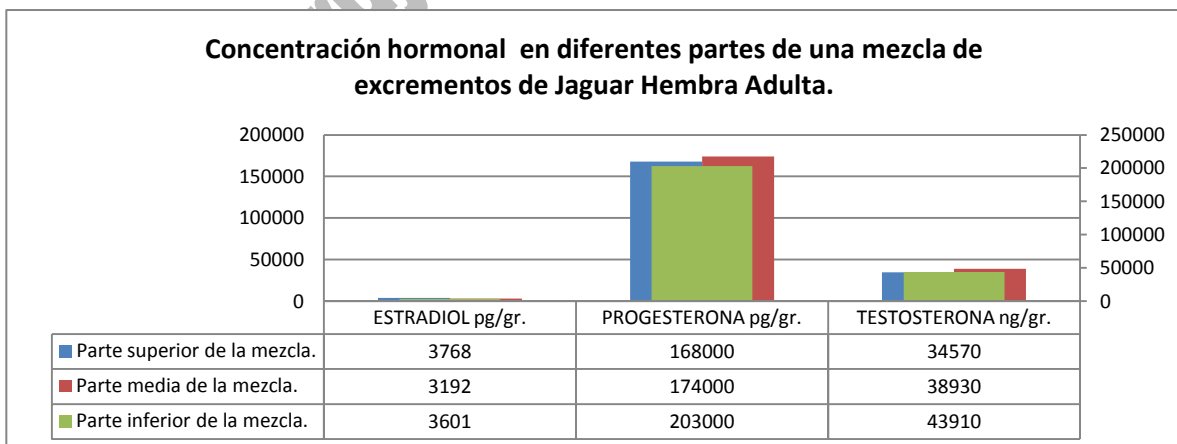
Grafica 16. Resultados de los análisis hormonales realizados en la mezcla de los excrementos depositados por un puma macho adulto durante 3 días.



Grafica 17. Resultados de los análisis hormonales realizados en la mezcla de los excrementos depositados por un puma hembra adulta durante 3 días.



Grafica 18. Resultados de los análisis hormonales realizados en la mezcla de los excrementos depositados por un jaguar macho adulto durante 3 días.



Grafica 19. Resultados de los análisis hormonales realizados en la mezcla de los excrementos depositados por un jaguar hembra adulta durante 3 días.

Los resultados de las muestras combinadas analizadas indican que la mayor concentración hormonal se encuentra en la parte media de la mezcla, en ese caso puede considerarse que la fracción media contiene una concentración promedio de la muestra o por lo menos representativa, al tratarse de una prueba experimental es necesario ajustar el método y toma de muestra.

Degradación Hormonal, Resultado General

Los análisis realizados en los once excrementos que fueron colocados en las áreas de estudio indican que la concentración hormonal es heterogénea en todo el excremento, las similitudes entre las variaciones hormonales de los excrementos en diferentes temporadas indican que la temperatura ambiental y la precipitación pluvial no influyen en la concentración hormonal temporal del excremento, no se demostró correlación entre los mm de lluvia y las concentraciones hormonales.

Al comparar los resultados hormonales entre temporadas se observó una diferencia significativa en los niveles de testosterona de todos los individuos, las causas pueden ser que durante los meses de junio y julio de 2010 los felinos estaban próximos al ciclo estral y por lo tanto había concentraciones hormonales altas. Observaciones realizadas por el encargado del área de felinos del zoológico Zacango indican que los animales desplegaron conductas reproductivas a mediados del mes de julio 2010. Se desconocen los sucesos que hayan ocurrido durante la diferencia temporal entre la toma de muestras (casi 7 meses) que hayan provocado diferencias significativas en las concentraciones de testosterona.

Los análisis de laboratorio complementarios (Mayo 2011) indican que existen fluctuaciones diarias en las concentraciones hormonales de los excrementos, es necesario aumentar el número de días para que los resultados del análisis sean confiables.

Degradación Física

Fotografías que ejemplifican los cambios en los colores del excremento durante la temporada seca. La antigüedad de las fotografías es en orden progresivo, de izquierda a derecha.



Fotografía 11. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos.



Fotografía 12. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos cilíndricos poco diferenciables.



Fotografía 13. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Segmentos sólidos poco diferenciables.



Fotografía 14. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Diarrea con bordes circulares u ovalados.



Fotografía 15. Cambios en los colores de un excremento clasificado como: Semisólidos.

En el proceso de colecta durante la temporada seca no se encontraron excrementos que se ajustaran a las clasificaciones de Segmentos cilíndricos posicionados verticalmente y de Diarrea con bordes irregulares.

Observaciones generales temporada seca

- En esta temporada de estudio los cambios en el color de los excrementos fueron muy lentos y no fueron tan obvios como en la temporada de lluvia.
- Sin embargo, los cambios fueron progresivos y definitivos. Los colores oscuros se volvieron opacos y posteriormente blancuzcos, el excremento se fue agrietando poco a poco conforme pasaban los días. Se pudo corroborar los cambios del excremento cuando está en contacto con humedad, debido a que el día 16 de marzo del 2011 llovió y los excrementos sufrieron ligeros cambios que coincidieron con los cambios observados en los excrementos estudiados en la temporada de lluvia.
- En el caso de los colores oscuros, con el paso de los días la intensidad y área que ocupan disminuyen, esto es un indicador de que el excremento está perdiendo humedad.
- Se debe considerar que las fotografías de un mismo excremento son diferentes entre sí (debido al cambio de posición del excremento al momento de ser transportado para tomar las fotos), puede dar apariencia de que hay cambios en la morfología del excremento pero en ocasiones no es así, sólo se debe al cambio de posición; los cambios registrados en las líneas de tiempo son un reflejo de las anotaciones de campo.

- Con los cambios de posición del excremento, algunos fragmentos blancos se ven negros, eso se debe a que la base del excremento (parte que está en contacto directo con malla tipo mosquitero) está menos expuesta que el resto, al no estar en contacto directo con los rayos del sol pierde humedad a un ritmo mucho más lento.
- En estos casos las aéreas blancuzcas no cambiaron de color, pequeñas partes del excremento ya tenían un color opaco (café). Debe recordarse que esas partes eran la base del excremento al inicio del monitoreo y al cambiar de posición quedaron expuestas.
- El color brillante se conserva en los lugares menos expuestos del excremento: grietas y huecos.
- Los excrementos en forma de diarrea, se aparecen contraídos y sus bordes se redujeron un poco, pero al momento de fragmentarlos para encontrar residuos de dieta los excrementos estaban demasiado duros y no fue posible romperlos. En la temporada de lluvia las diarreas también se contrajeron y sus bordes se redujeron, al fragmentarlas se observó que los excrementos eran rígidos pero con cierta flexibilidad (consistencia como de trozo de cuero).

Análisis de excrementos, observaciones generales

- El color, superficie y tipo de excremento depende totalmente de la cantidad de agua que tengan al momento de ser expulsados del cuerpo del felino. Aunque en algunos casos un color oscuro y/o superficie brillante pueden deberse a otras sustancias que intervienen en el proceso digestivo tales como biliverdina o a un exceso de lípidos en la dieta, lo cual pueden causar diarrea.
- Un excremento con el nivel promedio de humedad tiene la forma de segmentos cilíndricos cuando es depositado por el felino.
- Un ligero aumento en el nivel de humedad resulta en un excremento sólido pero con contornos irregulares o en diarrea con segmentos sólidos.
- Un excremento con demasiada humedad y/o lípidos es diarrea.
- El color del excremento del felino está en función de la humedad que tiene éste al momento de ser depositado por el animal. Las observaciones de colecta indican que si tiene poca humedad significa que el trozo de excremento estuvo mucho tiempo en el intestino grueso y se deshidrató, en caso contrario un animal que come constantemente o a intervalos de tiempo regulares defeca constantemente o a intervalos regulares por lo que el excremento pasa menos tiempo en el intestino grueso, tiene más humedad y está más oscuro al momento de ser depositado por el felino.
- Los colores son variables entre sí, utilizar una escala colorimétrica no es adecuado porque la clasificación dependería del juicio subjetivo de quien realiza la prueba, la iluminación, la antigüedad de la muestra, si el excremento está mojado o seco, en este estudio en particular también influye la refracción de la luz, cuando los marcos de madera están mojados.

- Por lo tanto las clasificaciones del color están relacionadas con la cantidad de humedad que tiene el excremento y los cambios observados al paso del tiempo y si está en contacto con humedad. Debe recordarse que estos cambios están condicionados por el tipo de superficie y morfología del excremento, la cantidad de agua que tenían cuando fueron excretados, el tipo y cantidad de residuos de dieta y la capacidad del excremento para absorber humedad cuando llueve.
- Se colectaron excrementos cilíndricos con una coloración blancuzca a pesar de estar frescos. Esto se observó en los excrementos de los felinos en cautiverio, colectados los días martes y viernes (en estos casos los felinos tenían más de 24 horas sin comer), por lo tanto los excrementos pasaron demasiado tiempo en el intestino grueso, este órgano absorbió la humedad de los excrementos y al momento en que fueron depositados tenían una coloración blancuzca, amarillenta u opaca (color café claro) y una consistencia dura, poco húmeda.

villafanetrujillo85@gmail.com

DISCUSIÓN

Los objetivos planteados al inicio de la investigación se cumplieron aunque la hipótesis de una disminución hormonal a lo largo del tiempo no se cumplió, aun así se encontró que las concentraciones hormonales son heterogéneas a lo largo del excremento y se realizó un registro sobre los cambios en las características físicas del excremento en temporada de lluvia y seca.

Degradación física

Se admite de antemano que uno de los aspectos más discutidos sobre el procedimiento de degradación física de los excrementos fue colocarlos en marcos de madera con malla y ubicarlos en el área de estudio, aún sabiendo que existen múltiples variables a considerar y que por lo tanto los resultados no serían representativos. Aún así, cada paso del trabajo fue cuidadosamente planeado y cada aspecto cumple con un objetivo en particular.

Se sabe que la dieta de los felinos en cautiverio es diferente a la que tienen sus pares de vida libre, pero esta investigación no es sobre el análisis de la dieta de felinos, por lo tanto las muestras obtenidas de los felinos del Zoológico Zacango son válidas.

En ningún momento hubo intención de determinar si los felinos en cautiverio estaban en ciclo estral o no, el objetivo era determinar la concentración temporal de las hormonas contenidas en los excrementos, en caso de que las hembras hubieran estado en estro durante la colecta de muestras sólo hubiera significado que las concentraciones hormonales en las muestras serían altas, pero el objetivo siempre fue el analizar cómo reaccionaban estas concentraciones a las variables ambientales, por lo que no hay diferencia entre muestras obtenidas de felinos ya sea que estén en ciclo reproductivo o no.

La temperatura y la humedad ambiental son variables presentes en cualquier medio, se reconoce la diferencia entre humedad ambiental y precipitación pluvial; aun así sólo se cuantificó esta última. Las principales variables estacionales en el PNSN consisten en que durante el año hay dos épocas bien definidas, la temporada de lluvia y la temporada seca, por lo que se decidió contrastar las diferencias en la degradación física de los excrementos durante ambas temporadas. Desafortunadamente conflictos sociales en la región, no permitieron regresar a trabajar en la temporada seca.

Colocar los excrementos sobre malla en marcos de madera también representa una variable importante. Inicialmente se consideró colocar los excrementos directamente en la tierra pero esto generaba grandes inconvenientes, como la dificultad para manipular y monitorear la muestra. Habría imposibilitado controlar la acción de insectos y coprófagos (sin contar a los mamíferos); en el caso de la temporada de lluvia existía la posibilidad de que el lugar se encharcara y se alterara la muestra. El aspecto determinante fue que la

humedad en el suelo facilita la proliferación microbiana, que afecta las características bioquímicas del excremento (Julca, 2006), lo cual hubiera alterado la concentración hormonal es las muestras.

Después de que se decidió colocar los excrementos en marcos, el aspecto a considerar fue el lugar en donde los marcos serían ubicados. Inicialmente se pensó en colocar los marcos en lugares, dentro del PNSN, en donde se han encontrado excrementos de puma y jaguar y así emular las condiciones naturales. No obstante, orina y excrementos son elementos de comunicación química entre los animales, utilizados principalmente para delimitar territorio, con riesgo de modificar la distribución espacial de los felinos de vida libre, por lo que se descartó la idea inicial y se decidió colocar los excrementos dentro del área cercada en un lugar de fácil monitoreo.

Está ampliamente documentado que en ocasiones los felinos entierran parcial o totalmente sus excrementos, así que colocar las muestras fecales de los animales de estudio en una malla no es totalmente representativo. Este caso se trataba de una variable que no podía emularse, hubiera sido arbitrario colocar tierra y materia orgánica en la muestra para cubrirla, además ninguno de los felinos del Zoológico Zacango presenta esta conducta. Por lo tanto, no había una referencia para replicar esa conducta en particular.

En condiciones naturales, el excremento está sometido a múltiples variables que afectan su velocidad de descomposición, la cantidad de humedad en la muestra al momento de ser depositada por el felino, si el excremento está expuesto, parcialmente tapado o enterrado, el tipo de suelo sobre el cual el felino defecó, la humedad del mismo, la cantidad y tipo de materia orgánica presente en el suelo, la posibilidad de que la muestra se vea afectada por insectos, coprófagos y/o mamíferos, las variables ambientales del medio como: temperatura, humedad ambiental, precipitación pluvial, incluso los rayos del sol; además, hay que considerar la intensidad, el tipo y duración de la exposición del excremento a todas estas variables.

El método empleado en esta investigación se diseñó de tal forma que se controlara la mayor cantidad de variables y, como tal, es una descripción de los cambios físicos y hormonales que ocurren en excrementos de puma y jaguar en condiciones controladas y cuantificables.

Al no existir un registro de cómo el excremento de felinos cambia por variables ambientales a lo largo del tiempo no es posible establecer comparaciones. Aranda (2000) realizó una descripción del excremento de pumas y jaguares, indica forma, dimensión y volumen, respecto a colores presentes en la muestra indica que la coloración es variable.

A lo largo del proceso de colecta de excrementos se identificaron 7 tipos diferentes de muestras, las variables que ayudaron a conformar estas categorías fueron: cantidad de humedad en el excremento, la forma de los segmentos y la

posición de los mismos, mediante el análisis de degradación física se identificó que cada excremento reacciona de forma única ante la temperatura ambiental y precipitación pluvial, lo cual está debidamente documentado en el registro fotográfico, debido a que cada excremento se degrada de una forma diferente. Este hecho respalda la clasificación de excrementos.

Identificar colores en el excremento es un aspecto controversial de este trabajo. Durante el desarrollo del diseño experimental se consideraron varias opciones, pero en cada caso había aspectos cuestionables sobre los resultados obtenidos. En caso de identificar los colores mediante una escala colorimétrica hay muchas variables en contra, la principal es el criterio subjetivo del investigador, seguido por la iluminación ambiental, durante el proceso de degradación física la cantidad, intensidad y proporción de los colores presentes en el excremento están en función de la humedad ambiental, dependiendo si la muestra está húmeda o mojada por lo tanto, los cambios en los colores son drásticos en poco tiempo, eso sin olvidar que la superficie de un excremento mojado es brillante y que cada excremento tiene una capacidad diferente de absorber y retener la humedad con la que está en contacto. Además, los residuos de dieta tienen coloraciones propias las cuales también reaccionan a la humedad del ambiente, por lo que es verdaderamente complicado establecer un criterio estándar e identificar colores utilizando una guía-escala colorimétrica.

Existe la opción de identificar colores utilizando software pero también hay variables en contra, para eso tendría que utilizarse una cámara digital y programar una función específica de tipo de objetivo para que todas las fotos salgan iguales. Otros inconvenientes son la iluminación externa, la distancia entre la cámara y el objetivo, en caso de que se desee emular el método de este trabajo, debe considerarse el material de la caja que ayudará a aislar la iluminación externa y el material de la base sobre la cual se coloquen los excrementos. Se identificó que los marcos de madera, al estar mojados, reflejan la luz de forma diferente, en esos casos los registros fotográficos tienen un tono azulado. En este caso un análisis computarizado no es viable ya que existe una diferencia de colores debido a que la luz se refleja de forma diferente en los marcos secos y mojados; después de considerar estas opciones aún debe seleccionarse un software especializado, sin olvidar que el excremento tiene varios colores en diferentes proporciones, intensidades y áreas.

La descripción de la superficie del excremento también es un aspecto subjetivo del investigador. Al no existir un antecedente bibliográfico parecido, se diseñó una lista de cotejo que permitió estandarizar las observaciones. A pesar de que se hace una descripción de cada una de las variables respecto a color y tipo de superficie éstos no dejan de ser criterios subjetivos y cualitativos por lo que en caso de que otro investigador decida replicar este trabajo se recomienda establecer la descripción de cada variable y reemplazar en la lista de cotejo que se diseñó en este trabajo.

Como se pudo observar en los resultados, los cambios morfológicos de los excrementos están en función de la humedad ambiental, en la temporada de lluvia los cambios en color y superficie son rápidos pero reversibles. Referente a la humedad, hay variables que son determinantes al momento de observar un excremento, debe considerarse el tiempo transcurrido desde la última lluvia así como la intensidad y duración de la misma, debe considerarse el tipo de suelo y humedad en el que se encontró la muestra. Durante la temporada de lluvia hubo noches en las que no llovió, aún así los excrementos amanecían con un color oscuro, esto se debe a la humedad generada por el rocío matutino. Durante la colecta, el pluviómetro registró 0.254 mm de lluvia, lo cual indica que incluso la humedad contenida en el aire es suficiente para provocar un cambio significativo en los colores de un excremento.

Por el contrario, los cambios registrados durante la temporada seca fueron lentos pero permanentes, el 16 de marzo de 2011 hubo una ligera llovizna, los excrementos se mojaron y oscurecieron (los cambios pueden apreciarse en registro fotográfico), un par de días después los excrementos habían recuperado la coloración que tenían antes de que lloviera.

Establecer la antigüedad de un excremento empleando las observaciones y registro fotográfico de esta investigación está descartado para la temporada de lluvia, ya que ocurren cambios drásticos en poco tiempo debido a la humedad.

Es factible aproximar la antigüedad de un excremento encontrado en campo pero únicamente en la temporada seca. Se requiere ubicar el excremento dentro de la clasificación propuesta para tener una idea clara de cómo se degrada y de los cambios que presenta a lo largo del tiempo. El principal factor en contra sería el color del excremento. Durante la colecta se registraron casos de excrementos recién depositados por el felino, pero que presentaban tonalidades de colores que oscilaban entre el color café claro, amarillenta y blancuzco (características correspondientes a excremento en estado intermedio de descomposición), esto se debe a que 2 días (no consecutivos) a la semana los felinos del zoológico no reciben alimento, así que el excremento dura más tiempo en el intestino grueso y absorbe la humedad. Si se considera que la alimentación de un animal de vida libre no está asegurada y que ocurre a intervalos irregulares de tiempo, se asume que debe ser común el encontrar ese tipo de excrementos en campo.

Los excrementos clasificados como diarrea son los que conservan muchas de sus características originales durante mayor tiempo. Los resultados indican que a pesar de que su superficie se contrae y sus bordes se reducen, el color mantienen una tonalidad oscura, las muestras de la temporada seca perdieron toda la humedad que tenían y su color final era ligeramente diferente al que tenían cuando eran frescas. El último día de observación de cada temporada se fragmentaron intencionalmente los excrementos para identificar residuos de dieta en cada muestra, las diarreas en la temporada de lluvia físicamente eran rígidas y flexibles, un equivalente adecuado sería un trozo de cuero; pero en la temporada

seca los excrementos estaban tan compactados que no se logró fragmentarlos para buscar residuos de dieta.

Todas las observaciones anteriores pueden corroborarse en los registros fotográficos, las líneas de tiempo y las tablas de descripción de cada excremento. Información contenida en Anexos.

Degradación hormonal

Inicialmente la hipótesis fue que la concentración hormonal en cada excremento disminuiría de manera paulatina o exponencial respecto al paso del tiempo y las condiciones ambientales pero no fue así. Sin embargo el apartado se quedo con el nombre de degradación hormonal para mantener congruencia con la hipótesis inicial.

Se realizó la cuantificación de las 4 hormonas esteroides sexuales que son cruciales en el ciclo estral pero en los resultados no existe ninguna grafica de cortisol. Se realizó la cuantificación de esta hormona, pero las concentraciones fueron muy bajas y estaban por debajo del rango de medición, por lo que no hubo resultados que reportar. Los motivos pueden los siguientes:

- a) Debe considerarse que los felinos del Zoológico Zacango no están sometidos a ningún estímulo estresor, tienen una ingesta calórica programada y los animales en los que han identificado conductas agresivas han sido separados, por lo cual los animales no están sometidos a ninguna variable adverso (además del cautiverio) y las concentraciones de cortisol, en efecto, son muy bajas.
- b) Sin embargo, las diferencias específicas de especie en el metabolismo de los esteroides y la acción de la microbiota bacteriana provocan que el excremento y la orina contengan concentraciones muy bajas de cortisol puro. Como consecuencia, las pruebas que utilizan anticuerpos de cortisol muy específicos pueden dar resultados muy bajos (Brousset, 2005), quizás este fue el motivo de las bajas concentraciones de cortisol pero no se debe descartar la opción anterior.

Existen múltiples trabajos que hay analizado la concentración hormonal en excrementos pero ninguno que haya colocado el excremento en campo y realizado varios análisis en diferentes partes de un mismo excremento, existe un trabajo similar realizado en venados cola blanca (Martínez-Romero, 2004) de una unidad de manejo ambiental, el cual reporta que la concentración hormonal de testosterona en excremento desaparece a los 9.6 días y la progesterona a los 5.94 días. Solo realizó una colecta de excrementos semanalmente, por lo tanto no conocía la antigüedad de la muestra, nunca describió la porción de excremento que analizó, los materiales y el método de extracción y cuantificación hormonal son diferentes a los empleados en esta investigación. Debe considerarse que la ruta de excreción y el tipo de metabolitos presentes es diferente entre especies,

además Martínez-Romero trabajó con excrementos de herbívoros y para esta investigación se utilizaron excrementos de carnívoros, por lo tanto las diferencias en los tipos de dieta y características físicas de los excrementos, pueden ser la razón de que los resultados de ambos trabajos sean diferentes.

Palacios (2007) realizó una cuantificación de hormonas esteroides para correlacionar la concentración hormonal con conductas reproductivas en pumas, sus muestras de animales en cautiverio corresponden a los pumas del Zoológico Zacango; aún así, las concentraciones hormonales que reportó difieren mucho con los resultados de este trabajo. Realizó una sola medición por excremento y no reporta qué tipo de excremento utilizó (sólido o diarrea) ni cuál fue la porción de excremento que analizó; indica que agregó colorante vegetal en la dieta de cada felino para identificar a qué animal pertenecía cada excremento colectado, se desconoce si la muestra se alteró por el colorante vegetal o si interfirió con los kits de medición. Comparó los resultados con datos que obtuvo de la colecta de excrementos de animales de vida libre en PNSN y realizó cuantificaciones hormonales mediante radioinmunoanálisis. La limitación metodológica más relevante fue omitir un análisis de pigmentos biliares, por lo tanto asumió que los excrementos que encontró en PNSN eran de puma. Con una alta probabilidad pudo haber trabajado con excrementos de jaguar, sin saberlo.

Los trabajos y publicaciones científicas en donde han analizado excrementos de mamíferos para análisis hormonales no describen cómo colectaron las muestras que analizaron (Martínez-Romero 2004, Brousset 2005, Palacios 2007, Valdespino 2007). Es imprescindible establecer un método estándar para la colecta, definir tipo de muestra, el procedimiento debe adecuarse en cada caso porque los excrementos entre carnívoros y herbívoros así como en entre especies difieren entre sí.

En esta investigación los excrementos empleados para el análisis hormonal fueron colectados y transportados al área de estudio el mismo día en que fueron depositados por los felinos. Estos excrementos fueron colocados en los marcos tal y como fueron expulsados y no sufrieron alteración alguna; invariablemente se consideró el último segmento expulsado por el felino como la referencia inicial para realizar los cortes correspondientes, llamados repeticiones. Se consideraron los antecedentes en el análisis de excrementos de Brousset (2005), por lo tanto sólo se emplearon excrementos en forma de segmentos, lo que corresponde a la descripción de Aranda (2000), para la cuantificación hormonal.

Sin un antecedente metodológico preciso, y debido a que se realizarían múltiples cortes al mismo excremento, se decidió que la forma de obtener porciones con concentraciones hormonales representativas sería realizar cortes transversales a los excrementos. La ventaja de estos cortes semejantes a “rodaja” consiste en que la parte externa, al estar expuesta a las condiciones del medio, tendría una concentración hormonal baja, la parte interna se conservaría fresca y tendría una concentración hormonal alta, por lo tanto la toma de muestra tipo rodaja fue la opción ideal.

Inicialmente se pensaba obtener un número igual de repeticiones por cada excremento, esto no fue posible debido a que los excrementos al ser cortados quedaban expuestos a las condiciones del medio, las cuales aceleraron el proceso de degradación física. En cada uno de los cortes realizados durante ambas temporadas se utilizó material nuevo para no alterar la concentración hormonal de la muestra.

Los resultados de radioinmunoensayo en todas las repeticiones de los once excrementos analizados indican que la concentración hormonal es heterogénea a lo largo de la muestra, debido a las diferencias diarias en las concentraciones hormonales. No fue posible describir la tendencia logarítmica de la concentración hormonal temporal.

Debido a que no se estableció correlación entre la concentración hormonal temporal y los milímetros de lluvia a los que estuvieron expuestos los excrementos, se determinó que las concentraciones hormonales no se ven afectadas por variables climatológicas, por lo tanto el cambio de área de estudio entre temporadas no fue una variable que marcara diferencia alguna.

Los resultados indican que en algunas repeticiones las concentraciones hormonales mucho más altas de lo esperado, aún para el grupo de datos al que pertenecen, esto puede explicarse ya que durante el proceso de extracción de esteroides fue necesario utilizar pequeñas partes del excremento (del tamaño de un garbanzo); todas las muestras tuvieron un tamaño semejante pero con peso diferente, así que los cambios tan abruptos en las concentraciones hormonales pueden deberse a la diferencia de densidad en las muestras analizadas. Esto último se descarta debido a que alrededor del 95% de las muestras utilizadas tenían pesos semejantes y la diferencia no fue mayor a 0.7 gramos.

Una vez descartadas las posibles fuentes de error y al determinarse que la concentración hormonal es heterogénea a lo largo del excremento, es necesario señalar aspectos clave del proceso digestivo para tratar de explicar la causa. Si se considera que las concentraciones hormonales en el excremento tienen su origen en la bilis, entonces puede suponerse que las concentraciones hormonales son heterogéneas en el excremento debido a la cantidad de bilis a la que está expuesto el quimo alimenticio cuando se encuentra en el duodeno. En este caso, existen 4 variables decisivas que influyen en la concentración hormonal de lo que se convertirá en excremento: i) el metabolismo del animal; ii) la cantidad de quimo alimenticio; iii) la cantidad de bilis secretada y iv) los movimientos peristálticos del duodeno, los cuales determinan qué porción de quimo alimenticio se mezcla con bilis y durante cuánto tiempo.

Considerando este panorama, no es adecuado comparar las concentraciones hormonales entre excrementos de adultos y juveniles, dado que los metabolismos, así como la eficiencia del sistema digestivo, son diferentes entre individuos; se pueden encontrar diferencias significativas entre las

concentraciones hormonales de un animal viejo y las de un juvenil que no tiene el sistema reproductor y un eje hipotálamo-hipófisis-gonadal maduros.

Este trabajo es el primero en su clase debido al procedimiento que se utilizó ya que no se habían realizado múltiples cuantificaciones hormonales en diferentes partes de un mismo excremento y cada porción analizada tenía una antigüedad diferente entre sí. En caso de realizar análisis hormonales en excrementos es necesario establecer un método riguroso en la selección del tipo de muestra, así como de la porción de excremento a analizar y ajustar el número de excrementos que deban utilizarse dependiendo del objetivo de la investigación.

villafanetrujillo85@gmail.com© 2012

CONCLUSIÓN

Las características morfológicas del excremento al momento de ser depositados, dependen de la cantidad de agua y lípidos contenidas en la dieta del animal, así como la cantidad de tiempo que el excremento dure en el intestino grueso.

Los cambios en la morfología del excremento dependen de la humedad ambiental, incluso el rocío matutino es suficiente para provocar cambios significativos en el color y superficie de los excrementos.

Durante la temporada de lluvia los cambios en el excremento están condicionados por la cantidad de humedad ambiental y precipitación pluvial, así como por la cantidad de mm de agua que sea capaz de absorber el excremento.

Los cambios en la superficie y color del excremento, al estar en contacto con humedad, son bruscos pero reversibles, estos cambios dependen de la velocidad a la que el excremento pierde la humedad que absorbió.

En caso de coleccionar muestras de animales de vida libre durante la temporada de lluvia, el color no es el indicador apropiado para determinar la antigüedad de un excremento.

La degradación de las características físicas de los excrementos ocurre a mayor velocidad en la temporada de lluvia.

En la temporada seca, los cambios en la superficie y color del excremento fueron lentos pero progresivos. Es posible determinar la antigüedad de un excremento, siempre y cuando se observen las características que presentan en color y superficie.

Las concentraciones hormonales son heterogéneas en excrementos de los felinos de estudio.

Las pruebas de laboratorio complementarias, indicaron que hay variaciones en periodos de 24 horas respecto a las concentraciones hormonales presentes en los excrementos.

Las variables extremas de un medio, como sequia y lluvia, no provocan cambios en la concentración hormonal temporal de los excrementos. Se acepta la hipótesis nula.

Los resultados de esta investigación indican que es necesario estandarizar el método de toma de muestra, ya que las concentraciones hormonales son heterogéneas a lo largo del excremento y una elección arbitraria para análisis hormonal puede llevar a resultados incorrectos, a pesar de que el procedimiento de inmunoanálisis sea técnicamente impecable.

BIBLIOGRAFÍA

- Aranda, M. (2000). Huellas y otros rastros de los mamíferos grandes y medianos de México. México. Instituto de Ecología, A.C.
- Azlan, J. y Sharma, D. (2003). Camera trapping the indochinese tiger. *Panthera tigris coberti*, in a secondary forest in peninsular malaysa. *The raffles bulletin of Zoology*. 51(2): (pp. 424-427).
- Azuara, D. (2005). Estimación de abundancia de mamíferos terrestres en un área de la selva Lacandona Chiapas. Tesis de licenciatura. UNAM. (pp. 136).
- Blanvillian, J.L., J. L. Berthier, M. C.Bomse-Dumont, A. J. Semperé, G. Olbritch and F. Schwarzenberg. (1997). Análisis of reproductive data and mesure mend of fecal progesterone metabolites to monitor the ovarian function in the Pudu pudu puda (*Artiodactyla cervidae*). *Mammalia*. (61: pp. 589-602).
- Baulieu EE, Robel P. (1990). Neurosteroids: a new brain function? *J Steroid Biochem Mol Biol* (37: pp. 395–403).
- Berwick, S.H. y V.B. Saharia. (1995). The Development of Internacional Principles and Practices of Wildlife Research and Manegement Asian and American Approaches. Oxford. (pp. 481).
- Borboa Reyes, A. (1999). Temascaltepec, Monografía Municipal. 3era ed. Instituto Mexiquense de Cultura. Toluca, Estado de México. (pp. 23-32).
- Botello, F.J. (2004). Comparación de cuatro metodologías para determinar la diversidad de carnívoros en Santa Catarina Ixtepeji, Oaxaca. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
- Botello, F., Gabriela, M., Illoldi-Rangel, P. (2006), Sistematización de imágenes obtenidas por fototrampeo: una propuesta de ficha, *Revista Mexicana de Biodiversidad*, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México. (año/vol. 78, numero 001, pp. 207-210).
- Brousset Hernández-Jáuregui, D.M. et al. (2005). Cortisol en saliva, orina y heces: evaluación no invasiva en mamíferos silvestres. . *Veterinaria México*, 36 (3). (pp. 325-337).
- Brown, J. L., Wasser, S. K., Wildt, D. E., and Graham, L. H. (1994). Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian actividad in felids, measured noninvasively in feces. *Biology of Reproduction*. (51: pp. 776- 786).
- Casas-Andréu G. y X. Aguilar-Miguel. (2005). Herpetofauna del parque Sierra de Nanchititla, Estado de México, México; lista, distribución y conservación. *Ciencia ergo sum*. 12: (pp. 44-53).
- Cazón, Ada V.; Juarez, Víctor D.; Monjeau, J. A.; Lilienfeld, M. (S/F). Discriminación de heces de puma (puma concolor) y jaguar (panthera onca) por identificación de sus ácidos biliares: una técnica para el monitoreo de carnívoros silvestres *Mastozoología Neotropical*, (Vol. 16, Núm. 2, diciembre-sin mes, 2009, pp. 449-453).
- Ceballos, G. y Galindo, C. (1984). Mamíferos silvestres de la cuenca de México. Limusa. México. (pp. 299).
- Ceballos, G. y Oliva, G. (2005). los mamíferos silvestres de México. Fondo de la Cultura Económica. México Distrito Federal. (pp. 986).
- Chávez, C. (2006). Ecología poblacional y conservación del jaguar (*Panthera onca*) en la Reserva de la Biosfera Calakmul, Campeche. Tesis de Maestría. UNAM. (pp. 781).
- Chávez, C. Ceballos, G., Medellín, R. y H. Zarza. (2007). Primer censo nacional del jaguar. (pp. 133-141). En: Ceballos, G., C. Chávez, R. List y H. Zarza. *Conservación y Manejo del Jaguar en México estudios de caso y perspectivas*. CONABIO-UNAM alianza WWF, Telcel. México D. F.

- Conroy M. J y J. D. Nichols. (1996). Designing a study to assess mammalian diversity. *In*: Wilson D. E., F. R. Cole., J. D. Nichols., R. Rudram y M. S. Foster (Eds). (1996). *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Mammals*. Smithsonian. Washington and London. (Cap. 3 pp. 41-49).
- Czekala, N. M., Gallusser, S., Meier, J. E., and Lasley, B. L. (1986). The development and application of an enzyme immunoassay for urinary estrone conjugates. *Zoo. Biol.* 5: (pp. 1-6).
- Dreschel, N. A., Douglas, A. G. (2009). Methods of collection for salivary cortisol measurement in dogs!, *Hormones and Behavior* (55 pp. 163–168).
- Diario Oficial de la Federación. (2002). (segunda sección), Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección Ambiental-Especies Nativas de México, Flora y Fauna Silvestres-Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio Lista de Especies en Riesgo.
- Díaz-Negrete, M. (2006). Niveles de Cortisol y estado endoparasitario de heces de jaguar (*Panthera onca*) y puma (*Puma concolor*) de vida libre, en el ejido Caobas, Quintana Roo, Tesis de Maestría, El Colegio de la Frontera Sur, Chiapas. México.
- Estrada, A. (2007). La fragmentación de la selva y agrosistemas como reservorios de conservación de la fauna silvestre en Los Tuxtlas, México. . *In*: J. Saenz y C. Harvey (Eds). *EVALUACION Y CONSERVACION DE LA BIODIVERSIDAD EN PAISAJES FRAGMENTADOS EN MESOAMERICA*. (pp.327-350).
- Faller-Menendez, J.C., Luis, A.L.T., Hernandez-Cardola, A. (2007). Video Filmación como Técnica de Estudio de Mamíferos Silvestres: Un Ejemplo de Jaguares en el Noreste de la Península de Yucatán. *Revista Mexicana de Mastozoología México.*, (pp.47-56).
- Gittleman, J. L., S. M. Funk, D. Macdonald y R. K. Wayne. (2001). *Carnivore Conservation*. Cambridge. University Press. London. (pp. 675).
- Gobierno del Estado de México. (1999). Programa de manejo del parque natural de recreación popular sierra de Nanchititla. (pp 110).
- Gómez-Ortiz, Y. (2008). Contenido energético de la dieta del *Puma concolor* en la Sierra Nanchititla, Estado de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. (pp. 70).
- Graham, L. H., Goodrowe, K. L., Raeside, J. I., y Lipatrap, R. M. (1995). Noninvasive monitoring of ovarian function in several felid species by measurement of fecal estradiol-17 β . *Zoo Biology*. (pp. 223-237).
- Guerrero, J. (2007). Evaluación del hábitat de la nutria (*Lontra longicaudis*) en tres ríos del municipio de Temascaltepec, Estado de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. (pp 12).
- Hayssen, V., Tienhaven, A. y Tienhaven, A. (1993). *Asdell's Patterns of Mammalian Reproduction. A compendium of species-specific data*. Comstock publishing associates A division of Cornell University Press Ithaca and London. Segunda Edición. USA. (pp 312).
- Ishikawa A. *et al.* 2003. Changes in sexual behavior and fecal steroid hormone concentrations during the breeding season in female Hokkaido brown bears (*Ursus arctos yesoensis*) under captive condition. *J Vet Med Sci* ; 65(1):99-102.
- Kleiman, D., Allen, M., Thompson, K. y Lumpkin, S. (1996). *Mild Mammals in captivity. Principles and Techniques*. The University Of Chicago Press. Chicago. (pp. 390-416).
- Kodzue K. *et al.* 2011. Daily fecal sex steroid hormonal changes and mating success in captive female cheetahs (*Acinonyx jubatus*) in Japan. *Animal Reproduction Science*. Volume 125:1, 204-210.

- Kodzuke K. *et al.* 2011. Long-Term Monitoring of Fecal Steroid Hormones in Female Snow Leopards (*Panthera uncia*) during Pregnancy or Pseudopregnancy. PLoS ONE, vol. 6, issue 5, p. e19314.
Encuéntrese en: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0019314>
- Lanier, D. L., Dewsbury, D. A. (1976). A quantitative study of copulatory behaviour of large Felidae. *Behav. (Proc.* 1: pp. 327-333).
- Lasley, B. L., and Kirkpatrick, J. F. (1991). Monitoring ovarian function in captive and free-ranging wildlife by means of urinary and fecal steroids. *J. Zoo. Wildl. (Med.* 212: pp. 23-31).
- Laurance WE. y JD. Grant. (1994). Photographic Identification of Ground of Ground-nest Predator in Australian Tropical Rainforest. *Wildlife Resource*, (cap 21: pp. 241-248).
- Lindzey, T. (1987). Mountain lion. In *Wild furbearer management and conservation in North America*. Ontario Trappers Association. Ontario. (pp. 657- 668). citado en Sunquist.
- Logan, K.A., Sweanor, L.L. (1996). Cougars of the San Andres Mountains, New Mexico. Final report, Federal aid and Wildlife restoration Project. Santa Fe: New Mexico. Department of Game and Fish.
- Logan, K.A., Sweanor, L.L. (2001). Desert Puma; Evolutionary Ecology and Conservation of an Endocrine Carnivore. ISLAND PRESS. E. U. (pp. 463).
- López A. (2001). Contribución al conocimiento de los mamíferos silvestres del parque Sierra de Nanchititla. Tejupilco México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. (pp. 46).
- Lorenzana G, Castillo R. y López C. (2004). Distribution, habitat association, and activity patterns of medium and large-sized mammals of Sonora, Mexico. *Natural Areas Journal* 24(4): (pp. 354-357).
- Maehr, D. S., Land, E. D., and Roof, J. C. (1989). Early maternal behaviour in the Florida panther (*Puma concolor coryi*). *Am. Midland. Nat.* 122: (pp. 34-43).
- Martínez-Romero, L.E., 2004. Determinación de fechas de aprovechamiento del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) a través de hormonas sexuales y comportamiento. Tesis de Maestría de Manejo de Fauna Silvestre. Instituto de Ecología, A.C.
- Miller B., R. Reading, J. Stritthalt, C. Carroll, R. Noss, M. Soule, O. Sánchez, J. Teiborgh, D. Brightsmith, T. Cheeseman y D. Foreman. 1999. Using focal species in the design of reserve networks. *Wild earth*. Invierno. 1998-1999.
- Monroy-Vilchis O. y A. Velásquez. (2002). Distribución regional y abundancia del Lince (*Lynx rufus escuinape*) y el coyote (*Canis latrans cagottis*), por medio de estaciones olfativas un enfoque espacial. *Ciencia Ergo Sum*, 9(3): (pp. 293-300).
- Moreira, N., Monteriro-Filho, W., Moraes, W., Swanson, F., Graham, L., Pasquili, O. L., Gomes, M. L., Morais, R. N., Wildt, D. E., Brown, J. L. (2001). Reproductive steroid hormones and ovarian activity in felids of the *Leopardus* genus. *Zoo Biology*. 20: (pp. 103-116).
- Méndez, J. y M. Garduño. (2001). Evaluación de la Abundancia del Pez Exótico *Gambusia affinis* en los ríos Palos Prietos y el Salto de la reserva ecológica de Nanchititla, Tejupilco, México. *Memorias del V Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y la Conservación San Salvador, El Salvador*. (pp. 61).
- Naranjo, E.J. y Bodmer RE. (2007). Source-sink systems and conservation of hunted ungulates in the Lacandon Forest, Mexico. *Journal of Biological Conservation*. (138). (pp. 412-420).
- Navarro-Serment C. J., C. A. López González y J. P. Gallo-Reynoso. (2005). Ocorrente of jaguar (*Phantera onca*) in Sinaloa, México. *The Southwestern Naturalist*, 50(1) (pp. 102-106).
- Norman, A. W. y Litwack, G. (1997). *Hormones*. Academic Press. Segunda Edición. E. U. (pp. 65-86).

- Ortega, U. A. M., (2006). Distribución y uso de hábitat del jaguar (*Panthera onca*) y el puma (*Puma concolor*) en la Reserva de la Biosfera "Sierra Gorda", Querétaro, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Naturales Universidad Autónoma de Querétaro.
- Palacios Martínez, D. Y. (2007). Cuantificación de hormonas esteroides sexuales y su relación con el ciclo estral en puma (*Puma concolor*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. (pp. 15 – 29).
- Peretz, E. (1968). Estrogen dose and duration of the mating period in cats. *Physiol. Behav.* 3: (pp. 41-43).
- Pérez-Mejía, S., Salvador M., Martínez R., (2004). Tasa de defecación del venado cola blanca, *odocoileus virginianus mexicanus*, en cautividad en Puebla, México. *Acta Zoológica Mexicana* (nueva serie), (año/vol. 20, número 003. 2004. pp 167- 170).
- Pérez R. J. J., Álvaro A. S., Villa G. A., Héctor S., (2005). Relación entre estructura y función de receptores para hormonas esferoidales: receptores estrogénico. *Veterinaria México*, octubre-diciembre, año/vol. 36, número 004. Universidad Nacional Autónoma de México. 2005. (pp. 437- 452).
- Plotka, E. D; U. S. Seal and L. J; Ogaza. (1983). The adrenal gland in the white-tailed deer: a significant source of progesterone. *J. Wildl. Manaje.* (47: pp. 38-44).
- Ray, J. C., K. H. Redford, R. S. Steneck y J Berger. (2005). *Large Carnivores and the Conservation of Biodiversity*. Island Press. Washington, Covelo, London. (pp. 526).
- Rodríguez Soto, C. (2007). Distribución y uso de hábitat de felinos en la Sierra Nanchititla, Estado de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. (pp 37).
- Rubio Rodríguez, R. (2009). Regionalización biótica, abiótica y social del Parque Natural Sierra Nanchititla, México: Propuesta de conservación. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de México. (pp 72).
- Ross, P. I., and Jalkotzy, M. G. (1992). Characteristics of a hunted population of cougars in southwestern Alberta. *J. Wildlife Management.* (56: pp. 417-426).
- Sachiko M. *et al.* 2001. Monitoring the Reproductive Status of Female Gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) by Measuring the Steoid Hormones in Fecal Samples. *Primates.* 42(4): 291-999.
- Sánchez O., Ramírez-Pulido J.; Aguilera-Reyes U. and O. Monroy-Vilchis. (2002). Felid record from the state of México, México. *Mammalia.* (66: pp. 289-294).
- Sánchez-Cordero, V, P. Illoid-Rangel, M. Linaje S, Sarkar, y AT. Peterson. (2005). Deforestation and extant distributions of Mexican endemic mammals. *Biological Conservation*, 126(6): (pp. 465-473).
- Sarmiento Aguilar R. (2004). Métodos de estimación poblacional del jaguar (*Panthera onca*) Parque Nacional Corcovado, Costa Rica. Tesis de Maestría. Universidad Nacional. (pp 75).
- Siiteri, P.K. 1981. Extraglandular oestrogen formation and serum binding of oestradiol: relationship to cancer. *J. Endocrin.* 89: 119-129.
- Silveira L, Jácomo A, TA, Alexandre J. y Filho D. (2003). Camera trap, line transect census and track surveys: a comparative evaluation. *Biological. Concervation* (114: pp. 351-355).
- Shille, V. M., Wing, A. E., Lasley, B. L., y Banks, J. A. (1984). Excretion of radiolabeled oestradiol in the cat (*Felis catus*). *Zoo. Biol.* 3: 201-209.
- Soria Díaz L. 2007. Variación de la abundancia y densidad de *Puma concolor* en la Sierra Nanchititla, Estado de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. (pp.43).

- Soria Díaz, L. (2010). Variación de la abundancia y densidad de *Puma concolor* en zonas con alta y baja concentración de trampas cámara en el centro de México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California. (pp.62).
- Sunquist, M. and Sunquist, F. (2002). Wild Cats of the World. The University Chicago Press. Primera Edición. (pp 452).
- Sutherland W. (1996). Ecological Census Techniques. Cambridge. USA New York. (pp. 336).
- Sweanor, L. L. (1990). Mountain lion social organization in a desert environment. Master's Thesis. University of Idaho, Moscow.
- Togashi M. *et al.* 2009 .Plasma and fecal sex steroid hormone profiles during the estrous cycle in a Japanese serow (*Capricornis crispus*). J Reprod Dev. 55(4):412-7.
- Torres Romero E. J. (2009). Densidad, abundancia, uso de hábitat y patrones de actividad del ocelote (*Leopardus pardalis*) en la zona noreste del Estado de Quintana Roo: Estudio usando cámaras trampa. Tesis de Maestría. Colegio de la Frontera Sur. (pp 62).
- Valdespino C., Rodolfo M. M., García Feria L. M., Luis Enrique M. R. (2007). Evaluación de eventos reproductivos y estrés fisiológico en vertebrados silvestre a partir de sus excretas: evolución de una metodología no invasiva. Acta Zoológica Mexicana (nueva serie), año/vol. 23, número 003. 2007. (pp 151- 180).
- Van Schaik CP. y M. Griffiths. (1996). Activity periods of Indonesian rain forest mammals. Biotropica 28(1): (pp.105- 112).
- Walker R. S., A. J. Novaro y J. D. Nichols. (2000). Consideraciones para la estimación de abundancia de poblaciones de mamíferos. Mammal 7 (2): (pp. 73-80).
- Wallace RB, H. Gómez, G. Ayala y F. Espinoza. (2003). Camera trapping for jaguar (*Panthera onca*) in the Tuichi Valley, Bolivia. J. Neotropical Mammalogist. 10 (1): (pp. 133-139).
- Wasser, S. K., Monfort, S. L., and Wildt, D. E. (1991). Rapid extraction of faecal steroids for measuring reproductive cyclicity and early pregnancy in free-ranging yellow baboons (*Papio cynocephalus*). J. Reprod. Fertil. 92: (pp. 415-423).
- Whitten, P. L., Brockman, D. K., Stavisky, R. C. (1998). Recent Advances in non-invasive Techniques to Monitor Hormone-Behavior Interactions. Yearbook of Physical Anthropology. E.U. 41: (pp. 1-23).
- Wielebnowski , N., y Brown, J. L. (1998). Behavioral correlates of physiological estrus in cheetahs. Zoo. Biol. 17: (pp. 193-209).
- Wildt, D. E., Howard, J., and Brown, J. (2003). Conservation biology. Carnivore conservation; Role of reproductive sciences in carnivore conservation. University Press. 1ª ed. Cambridge. (pp. 675).
- Xiao-Jie Y. *et al.* 2011. Non-invasive determination of fecal steroid hormones relating to conservation practice in giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). Animal Biology, Volume 61:3, 335 – 347.

ANEXOS

Variación temporal y espacial de la concentración de hormonas esteroides sexuales en excrementos de puma y jaguar

Villafañe-Trujillo A.J.^{1,3}, Aguilera-Reyes U.¹, Fajardo V.¹, Monroy-Vilchis O.², y García-López G. I.³

¹Laboratorio de Conducta Animal, Centro de Investigación en Recursos Bióticos de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de México.

²Estación Biológica Sierra Nanchititla, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México.

³Centro Universitario Atlacomulco, Universidad Autónoma del Estado de México.

Enviado: febrero 15, 2012; Recibido: Febrero 28, 2012

RESUMEN

Los análisis de Hormonas Esteroides Sexuales (HES) en excrementos son métodos no invasivos realizados para obtener información biológica de la especie de estudio. No hay un método estandarizado para seleccionar la porción de excremento a analizar sea de animal en cautiverio o vida libre, tampoco se considera la antigüedad de la muestra. Los excrementos de animales de vida libre están expuestos a variables que modifican sus características morfológicas y bioquímicas. Para esta investigación se colectaron 22 excrementos de pumas y jaguares en cautiverio, se identificó origen y antigüedad; diez excrementos estuvieron expuestos a condiciones climatológicas de temporada de lluvia y seca en un bosque de pino-encino, diariamente se realizó un corte transversal a cada muestra. Mediante radioinmunoensayo (RIA) se determinó la concentración hormonal de cada corte. Los resultados indican que la concentración hormonal es heterogénea en el excremento; no hay correlación entre precipitación pluvial y concentración hormonal temporal del excremento. Se analizaron 12 muestras en condiciones de laboratorio mediante RIA se demostró que hay variaciones diarias en las concentraciones basales en los excrementos de los felinos de estudio. Debe estandarizarse un método de toma de muestra según el objetivo de la investigación y la especie de estudio.

Palabras clave: Felinos, HES, Radioinmunoensayo, Temperatura, Precipitación Pluvial.

ABSTRACT

The Sexual Steroids Hormones analysis (SSH) in excrement is a non invasive method, with the purpose of obtaining biological information of the specie in study. There isn't a standardized method to select the exact quantity of excrement to be analyzed whether it is a captive or a wild animal, neither the age of the sample is considered. For this research, 22 samples were collected. Captive jaguar and cougar were selected, age and origin were identified; 10 samples were exposed to dry and rainfall conditions in the pine-oak forest, cross sections were taken daily to each sample. Through radioimmunoassay (RIA) we determined the hormonal concentration in each section. The results indicate that the hormonal concentration in the excrement is heterogeneous; there is no correlation between rainfall and temporal hormonal concentration of the excrement. 12 samples were analyzed in lab conditions through RIA, it was shown that there are daily variations in the basal concentrations of the felines excrement in study. According to the objective of the research and specie in study, a sampling method standardization should be implemented.

Keywords: Feline, Sexual Steroids Hormones, Radioimmunoassay, Temperature, Rainfall.

³ Correspondencia: villafanetrujillo85@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los esteroides sexuales son lípidos complejos derivados del colesterol, secretados por ovarios, testículos, glándulas adrenales y placenta; (Baulieu y Robel, 1990). Las causas que afectan la concentración hormonal contenida en los excrementos son: constipación, diarrea, restricción de alimentos, cantidad de fibra en la dieta, tratamientos con antibióticos y las características metabólicas de cada individuo (Brousset, 2005).

En animales de vida libre, cuantificar las concentraciones de HES en excremento permite identificar el sexo del organismo que lo depositó y realizar inferencias sobre su homeostasis, tal y como reportan Xiao-Jie et al (2011) en *Ailuropoda melanoleuca*.

Con las especies en cautiverio, es posible monitorear el estado reproductivo del animal al cuantificar las hormonas en excrementos como señalan Sachiko et al, (2001) que estudiaron excrementos de *Gorilla gorilla gorilla* hembra y complementaron sus datos analizando las concentraciones hormonales en suero. Existen investigaciones enfocadas a establecer los perfiles hormonales de los animales antes, durante y después del ciclo reproductivo para correlacionarlos con conductas estereotipadas según reportan Ishikawa et al. (2003) trabajando con muestras de *Ursus arctos yesoensis*. Existen investigaciones enfocadas a monitorear las concentraciones hormonales durante la gestación en diferentes especies como *Panthera uncia* (Kodzuke et al 2011), *Capricornis crispus* (Togashi et al. 2009) y *Acinonyx jubatus* (Kodzue K., et al. 2011).

En la literatura referida, las investigaciones con excrementos de animales de vida libre y/o en cautiverio describen realizar una cuantificación hormonal por excremento, la elección de la porción de muestra analizada no es un procedimiento estandarizado. Excepto por Martínez-Romero (2004), que trabajó con excrementos de *Odocoileus virginianus* no se ha evaluado si la concentración hormonal es constante durante un periodo de tiempo. Tampoco se han realizado estudios para determinar si la concentración hormonal es homogénea a lo largo del excremento. Asumir que la concentración hormonal es homogénea en toda la muestra y que estas concentraciones son constantes a lo largo de un periodo de tiempo puede introducir sesgos.

No existe registro sobre la pérdida de la concentración de hormonas esteroides sexuales en excrementos de carnívoros, por tal razón, este estudio permitiría obtener una mayor precisión en la cuantificación de las concentraciones hormonales cuando se analicen excrementos de animales de vida libre. Bajo este argumento se realizaron múltiples cuantificaciones a un mismo excremento para conocer la concentración hormonal en toda la muestra y determinar los cambios durante el transcurso del tiempo. El objetivo de esta investigación es cuantificar la concentración espacial y temporal de HES en excrementos de pumas y jaguares expuestos a condiciones naturales durante las temporadas seca y de lluvia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los excrementos fueron colectados en el Zoológico Zacango, México. Se obtuvieron muestras de tres pumas (un macho, una hembra y una hembra juvenil con edades de 9,6 y 3 años) y tres jaguares (un macho melánico, una hembra y un macho juvenil (de 4, 10 y 2 años respectivamente) cuya dieta individual consistió en 4 kilos de carne de res o caballo durante cinco días a la semana. Para identificar el origen de cada excremento los felinos fueron colocados durante la noche en encierros individuales.

A primera hora de la mañana cada excremento se colocó, individualmente, en un receptáculo (figura 1) y se etiquetó con los siguientes datos: especie, sexo y fecha de colecta. El diseño del receptáculo (marco de madera y malla metálica) tiene el propósito de aislar el excremento del suelo para que sus propiedades no interfieran en el proceso de descomposición, además permite filtrar la humedad en los días de lluvia. Sólo se colectaron excrementos sólidos en forma cilíndrica correspondientes con la descripción de Aranda (2000). Se emplearon cinco excrementos en cada temporada de estudio. Los excrementos fueron expuestos a la intemperie el mismo día en que fueron depositados por los felinos, durante diferente período de tiempo y distintas condiciones de humedad (Cuadro 1).

Los excrementos se organizaron en grupos (B, D, E y F), dependiendo de la fecha y orden en que fueron colocados en el área de estudio.

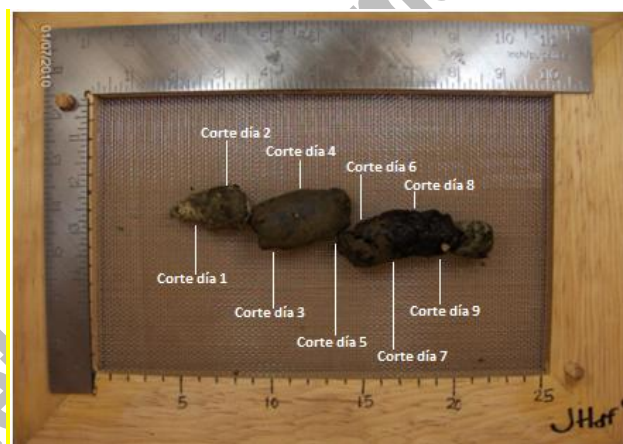


Figura 1. Excremento de jaguar hembra, se muestra la secuencia de cortes transversales realizados en cada una de las muestras que sirvieron para cuantificar la degradación hormonal.

Cuadro 1. Condiciones de exposición ambiental según temporada, tiempo e individuo.

Temporada de Lluvia*			Temporada de Seca**	
Excremento de:	Tiempo de exposición (días)	Exposición a humedad (mm)	Excremento de:	Tiempo de exposición (días)
Jaguar Hembra (GB)	13	287.2	Puma Macho (GB)	14
Jaguar Macho			Jaguar Macho	14
Juvenil (GB)			Juvenil (GB)	
Puma Hembra (GD)	19	278.0	Puma Hembra	10
Jaguar Macho	22	308.4	Juvenil (GE)	
Juvenil (GD)			Jaguar Macho (GE)	12
Puma Macho (GE)	14	25.2	Puma Hembra (GF)	10

*Temperatura promedio 20.2 °C.

**Temperatura promedio 26.6 °C

(G) Grupo

Diariamente, a cada excremento se le realizó un corte transversal con espátula metálica (en el orden mostrado en figura 1) de 3 mm de ancho, medido con Vernier; la muestra se colocó en recipiente plástico etiquetado (fecha, individuo a la que pertenece la muestra y número de repetición) con 30 ml de alcohol al 90% como solvente orgánico. A estos cortes se les consideró repeticiones de la misma muestra.

Para cuantificar las concentraciones hormonales en los excrementos, cada repetición fue sometida a una extracción de esteroides utilizando alcohol, posteriormente las concentraciones hormonales se determinaron mediante el método de radioinmunoensayo. Se realizaron dos pruebas de laboratorio complementarias. La primera para cuantificar la concentración hormonal total en diferentes excrementos de un mismo animal durante tres días consecutivos; la segunda prueba para determinar las concentraciones hormonales en distintas fases de una mezcla de excrementos del mismo animal. Durante tres días se colectaron excrementos en forma de segmentos de un macho y una hembra de cada especie, se utilizaron doce excrementos en total. Cada excremento se colocó en un mortero y se mezcló hasta obtener una pasta homogénea, se colocó en un vaso de precipitado de 50 ml. Se extrajeron 10 ml de la parte media de la mezcla, posteriormente fueron divididos para 2 análisis diferentes.

Método de la prueba 1. Diariamente se colocaron 5 ml en un vial etiquetado con 10 ml de alcohol al 90%. Se utilizaron 4 ml de cada una de las 3 muestras por especie para la extracción de esteroides y mediante RIA se obtuvo la concentración hormonal diaria en excrementos diferentes de un mismo organismo.

Método de la prueba 2. Durante 3 días se colocaron 5 ml de la muestra en un vial etiquetado, no se agregó alcohol y fue congelada a -40° C, el tercer día las muestra fueron descongeladas, los 3 excrementos de cada especie fueron colocados en un mismo vaso de precipitado con 30 ml de alcohol al 90% y se revolvieron con una varilla de vidrio durante 5 mins, posteriormente se extrajeron 4 ml de cada parte (superior, media e inferior) de la mezcla, después de la extracción de esteroides y usando RIA se cuantificó la concentración hormonal en diferentes partes de esa mezcla de excrementos del mismo organismo.

Los datos fueron analizados empleando el software STATISTICA® 8 se usó el método de correlación de Spearman para establecer la relación entre la concentración hormonal de cada corte y los milímetros de lluvia a los que estuvieron expuestos.

RESULTADOS

Los datos muestran fluctuación en las concentraciones hormonales de los excrementos analizados en ambas temporadas de estudio, lo que indica heterogeneidad en la concentración hormonal en diferentes partes del excremento. Los resultados de la concentración de progesterona en los excrementos durante el periodo de monitoreo se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Concentración hormonal de **progesterona** (ng/gr), en todos los excrementos de estudio según temporada de monitoreo.

Corte	Temporada de Lluvia					Temporada seca				
	Excremento de:					Excremento de:				
	JH, GB	JMJ, GB	JMJ, GD	PH, GD	PM, GE	PM, GB	JMJ, GB	JM, GE	PHJ, GE	PH, GF
1	41.3	21.4	70.4	954.8	558.6	344.4	233.8	382.6	158.1	351.6
2	21.2	39.4	52.1	168.7	29	247.4	153.4	547.6	588.5	162.5
3	32.3	33.5	85.9	56 520.4	84.1	157.5	225.6	345	452.7	343.7
4	36.9	34.7	3 344.8	539.6	386.9	269.6	167.9	453.9	351.4	235.3
5	45.1	49.2	113.8	766.6	10.9	112.2	701.9	171.5	198.4	1 023.5
6	25.3	41.3	1 089.3	295.1	32.1	340.2	260.6	343.3	408	8 355.9
7	1 866.1	48.1	75.4	699.4	166.9	627.5	177.7	346.8	830	1 082.9
8	562.7	71	215 426	707.8	65.5	118.9	434.6	245.4	245.1	1 228.5
9	7.3	29.7	401.7	2 333.8	15.4	158.7	471.4	142.3	200	405.7
10	33.5	29.1	370 169	1 687.3	83.6	240.8	212.9	300	159.8	462.5
11	40.8	27.1	176.56	815.9	80.7	143.4	172.8	99.3		750
12	15.1	33.3	267	436.8	129.1	92.5	433.3	76.6		498.3
13	50.5	27.6	27.1	200.8	72.3	141.8	291.1			
14			31.3	2 389.8	42.2	1 241.3	456.5			
15			67.4	1 726.5						
16			37.6	2 579.4						
17			79.7	9 028.7						
18			35.6	2 179.1						
19			95.4	57 010.9						
20			64.0							
21			93.7							
22			94.4							

JH= Jaguar Hembra, MJM= Jaguar Macho Juvenil, PH= Puma Hembra, PM= Puma Macho, JM= Jaguar Macho , PHJ= Puma Hembra Juvenil, GB= Grupo B, GD= Grupo D, GE= Grupo E, GF= Grupo F.

Cuadro 3. Concentración hormonal de **testosterona** (mg/gr), en todos los excrementos de estudio según temporada de monitoreo.

Corte	Temporada de Lluvia					Temporada seca				
	Excremento de:					Excremento de:				
	JH, GB	JMJ, GB	JMJ, GD	PH, GD	PM, GE	PM,GB	JMJ,GB	JM,GE	PHJ,GE	PH,GF
1	885	524.3	1 249.1	1 852.9	280.6	0.16	0.01	0.1	0.01	0.03
2	577	914	840.8	869.1	405.5	0.01	0.01	0.04	0.03	0.01
3	857.8	645	1 062.8	1 047	1 331.3	0.02	0.01	0.08	0.02	0.02
4	823.3	701.9	1498.3	881.4	909.9	0.07	0.01	0.12	0.02	0.01
5	1 182.4	1 148.7	1 826.8	1 773.9	84.2	0.03	0.05	0.04	0.01	0.04
6	1 253.1	789.8	18 359.4	2 943.6	141.2	0.01	0.01	0.07	0.02	0.34
7	841.3	1 055.8	681.0	3 207	1 002.3	0.11	0.01	0.14	0.07	0.07
8	358.5	1 290.5	1 303.2	1 762.1	395.5	0.01	0.01	0.07	0.02	0.25
9	431.0	573.1	1 471.3	3 065.1	94.8	0.03	0.01	0.08	0.01	0.1
10	828.6	595.6	1 034.2	3 534.5	740.5	0.01	0.01	0.05	0.04	0.05
11	1 152.1	573.5	1 509.7	3 673.4	1420.2	0.01	0.01	0.04		0.04
12	386.4	719.5	1 130.8	863.8	1 492.3	0.01	0.01	0.07		0.01
13	1 080.1	590.6	222.2	628.2	782.2	0.01	0.01			
14			853.8	5 929	394.8	0.45	0.04			
15			584.7	1 905.4						
16			252.6	6 326.4						
17			1 453.3	18 331.2						
18			301.6	3 168.6						
19			509.1	5 374.8						
20			598.1							
21			590.2							
22			699.4							

JH= Jaguar Hembra, MJM= Jaguar Macho Juvenil, PH= Puma Hembra, PM= Puma Macho, JM= Jaguar Macho , PHJ= Puma Hembra Juvenil, GB= Grupo B, GD= Grupo D, GE= Grupo E, GF= Grupo F.

Cuadro 4. Concentración hormonal de **estradiol** (pg/gr), en todos los excrementos de estudio según temporada de monitoreo.

Corte	Temporada de Lluvia					Temporada seca				
	Excremento de:					Excremento de:				
	JH, GB	JMJ,GB	JMJ,GD	PH, GD	PM, GE	PM, GB	JMJ,GB	JM, GE	PHJ, GE	PH, GF
1	1 996.5	636.6	278.3	39 277.4	15 951.2	98 714.3	9 738.4	32 913	25 072.7	22 798.4
2	1 140.6	1 158.7	722.2	15 831.2	2 375.2	18 076.9	11 930.2	31 285.7	49 228.6	9 093.7
3	1 899.8	1 005.7	1 478.9	48 894.6	4 495.6	14 899	11 359	27 550	35 722.2	27 437.5
4	1 103.1	735.4	1 206.2	42 695	13 820.5	47 616.9	6 012.8	12 285.7	28 228.6	15 656.6
5	2 194.6	1 763.2	964.2	66 555.6	438.5	10 300	12 921.6	6 806.8	14 222.2	35 088.2
6	2 171.3	1 151.7	3 391.2	124 894	1 308.2	11 107.8	7 106.0	16 466.7	26 040	966 559
7	1 716.4	1 612.9	874.4	240 122	11 275.5	84 913	6 197.5	13 379.8	82 525	249 293
8	933.2	2 044.8	871.5	8 481.4	4 004.6	5 493.6	9 367.3	10 763.6	16 774.2	1 069 286
9	740.1	865.2	1 439.7	15 565.9	479	122 116	33 714.3	5 065.9	13 774.2	185 788
10	1 981.7	852.8	1 941.8	24 075.7	2 722.8	15 142.9	7 870.3	17 238.1	14 640.9	76 166.7
11	1 954.3	750.2	1 492.1	30 744.7	4 321.1	9 115.9	5 771.7	4 578.9		35 392.9
12	1 243.5	871.6	1 082.6	23 031.4	4 057.2	9 913.5	18 888.9	4 009.7		23 629
13	2 473.7	742.3	398.0	14 316.7	2 022.5	17 907	12 558.8			
14			1 781.3	72 781.9	895.9	114 448	22 565.2			
15			1 860.6	26 021						
16			432.1	73 897.1						
17			2 161.2	205 886						
18			455.5	32 313.6						
19			781.5	137 148						
20			1 423.1							
21			739.4							
22			1 238.9							

JH= Jaguar Hembra, MJM= Jaguar Macho Juvenil, PH= Puma Hembra, PM= Puma Macho,
JM= Jaguar Macho , PHJ= Puma Hembra Juvenil, GB= Grupo B, GD= Grupo D, GE= Grupo E,
GF= Grupo F.

Resultados de las pruebas de laboratorio complementaria

Cuadro 5. Concentración hormonal en diferentes excrementos de los felinos de estudio.

Individuo	HORMONA	Día 1	Día 2	Día 3
Puma macho	PROGESTERONA (ng/gr)	153	85.3	161
	TESTOSTERONA (mg/gr)	0.05	0.05	0.04
	ESTRADIOL (pg/gr.)	69 462	36 651	109 893
Puma hembra	PROGESTERONA(ng/gr)	25.9	30.1	25.1
	TESTOSTERONA (mg/gr)	0.01	0.01	0.01
	ESTRADIOL (pg/gr)	9 880.0	10 605	6 979
Jaguar macho	PROGESTERONA (ng/gr)	118	24.3	15.8
	TESTOSTERONA (mg/gr)	0.05	0.02	0.05
	ESTRADIOL (pg/gr)	7 639	1 622	2 645
Jaguar hembra	PROGESTERONA (ng/gr)	24.8	142	206
	TESTOSTERONA (mg/gr)	0.03	0.05	0.04
	ESTRADIOL (pg/gr)	2 433	2 761	45 85

Se observó que hubo un cambio diario en las concentraciones hormonales de los excrementos a intervalos de 24 horas.

Cuadro 6. Concentración hormonal en diferentes partes de una mezcla de los excrementos depositados durante 3 días por los felinos de estudio.

HORMONA	PARTE DE LA MUESTRA	Puma		Jaguar	
		Macho	Hembra	Macho	Hembra
PROGESTERONA (ng/gr)	Superior	72.6	30.7	42.4	168.0
	Media	65.6	27.7	41.8	174.0
	Inferior	78.3	34.4	46.9	203.0
TESTOSTERONA (mg/gr)	Superior	0.02	0.01	0.03	0.03
	Media	0.02	0.01	0.03	0.04
	Inferior	0.02	0.01	0.02	0.04
ESTRADIOL (pg/gr)	Superior	30 867	12 492	2 462	3 768
	Media	31 129	12 528	2 667	3 192
	Inferior	35 512	13 081	2 927	3 601

Los resultados de la mezcla de excrementos diferentes del mismo animal indican que la concentración hormonal promedio se encuentra en la parte media de la mezcla, al tratarse de una prueba experimental es necesario ajustar el método de toma de muestra.

DISCUSIÓN

Inicialmente la hipótesis fue que la concentración hormonal en cada excremento disminuiría de manera constante respecto al paso del tiempo y las condiciones ambientales pero no fue así. Se realizó la cuantificación de las cuatro hormonas esteroides sexuales que son importantes en el ciclo estral, las concentraciones de cortisol fueron muy bajas y estaban por debajo del rango de medición, por lo que no hubieron resultados. Los factores pueden ser los siguientes:

- a) Debe considerarse que los felinos del Zoológico Zacango no están sometidos a ningún estímulo estresor, tienen una ingesta calórica programada y los animales en los que han identificado conductas agresivas han sido separados, por lo cual los animales no están sometidos a ninguna variable adversa y en consecuencia las concentraciones de cortisol son muy bajas.
- b) Sin embargo, las diferencias específicas de cada especie en el metabolismo de los esteroides y la acción de la microbiota bacteriana provocan que el excremento y la orina contengan concentraciones muy bajas de cortisol puro. Como consecuencia, las pruebas que utilizan anticuerpos de cortisol muy específicos pueden dar resultados muy bajos (Brousset, 2005), quizás este fue el factor determinante de las bajas concentraciones de cortisol, pero no se debe descartar la opción anterior.

Respecto al estudio de las HES existen múltiples trabajos que han analizado la concentración hormonal en excrementos pero ninguno menciona que haya colocado el excremento en campo y realizado varios análisis en diferentes partes de una misma muestra. Martínez-Romero, (2004) realizó un trabajo similar en excrementos de venados cola blanca en semicautiverio, comenta que la concentración hormonal de testosterona en excremento desaparece a los 9.6 días y la progesterona a los 5.9 días. Sólo realizó una colecta de excrementos semanalmente, por lo tanto desconocía la antigüedad de la muestra, nunca describió la porción de excremento que analizó, los materiales y el método de extracción y cuantificación hormonal son diferentes a los empleados en esta investigación. Debe considerarse que la ruta de excreción y el tipo de metabolitos presentes es diferente entre especies, además Martínez-Romero trabajó con excrementos de herbívoros y para éste estudio se utilizaron excrementos de carnívoros, por lo tanto las diferencias en los tipos de dieta y características morfológicas de los excrementos, pueden ser las razones por las cuales los resultados de ambos trabajos sean diferentes.

Palacios (2007), realizó una cuantificación de hormonas esteroides para correlacionar la concentración hormonal con conductas reproductivas de pumas en cautiverio y de vida libre, sus muestras de animales en cautiverio corresponden a los pumas del Zoológico Zacango; aún así, las concentraciones hormonales que encontró difieren mucho con los resultados de este estudio. Realizó una sola medición por excremento y no menciona qué tipo de excremento utilizó (sólido o diarrea) ni cuál fue la porción de excremento que analizó; indica que agregó colorante vegetal en la dieta de cada felino para identificar a qué animal pertenecía cada excremento colectado, se desconoce si la muestra se alteró por el colorante vegetal o si interfirió con los kits de medición. Comparó los resultados con datos que obtuvo de la colecta de excrementos de animales de vida libre en PNSN y realizó

cuantificaciones hormonales mediante radioinmunoanálisis. La limitación metodológica más relevante fue omitir un análisis de pigmentos biliares, por lo tanto asumió que los excrementos que encontró en PNSN eran de puma, pero con igual probabilidad pudo haber trabajado con excrementos de jaguar.

Los estudios que han analizado excrementos de mamíferos para análisis hormonales no describen el criterio de colecta para las muestras (Martínez-Romero 2004, Brousset 2005, Palacios 2007, Valdespino 2007). Es imprescindible establecer un método estándar para la colecta, definir la porción de muestra a analizar, el procedimiento debe adecuarse en cada caso porque los excrementos entre especies así como el tipo de metabolitos presentes difieren entre sí.

En este estudio los excrementos empleados para el análisis hormonal fueron colectados y transportados al área de estudio el mismo día en que fueron depositados por los felinos. Estos excrementos fueron colocados en los marcos tal y como fueron expulsados y no sufrieron alteración alguna; invariablemente se consideró el último segmento expulsado por el felino como la referencia inicial para realizar los cortes correspondientes, llamados repeticiones. Se consideraron los antecedentes en el análisis de excrementos de Brousset (2005), por lo tanto sólo se emplearon excrementos en forma de segmentos cilíndricos, lo que corresponde a la descripción de Aranda (2000), para la cuantificación hormonal.

Sin un antecedente metodológico preciso, y debido a que se realizarían múltiples cortes al mismo excremento, se decidió que la forma de obtener porciones con concentraciones hormonales representativas sería realizar cortes transversales a los excrementos. La ventaja de estos cortes semejantes a “rodaja” consiste en que la parte externa, al estar expuesta a las condiciones del medio, tendría una concentración hormonal baja, la parte interna se conservaría fresca y tendría una concentración hormonal alta, por lo tanto la toma de muestra tipo rodaja se consideró como la mejor opción.

Inicialmente se planeó obtener un número igual de repeticiones por cada excremento, esto no se logró debido a que los excrementos al ser cortados quedaban expuestos a las condiciones del medio, las cuales aceleraron el proceso de degradación física, cuando el excremento perdió humedad, se fragmentó y/o tenía un color blancuzco no se realizaron más cortes, en cada corte se empleo material nuevo.

Los resultados de radioinmunoensayo en todas las repeticiones de los diez excrementos analizados indican que la concentración hormonal es heterogénea en toda la muestra. Debido a las diferencias diarias en las concentraciones hormonales, no fue posible describir la tendencia logarítmica del comportamiento hormonal.

Debido a que no se encontró correlación significativa entre la concentración hormonal temporal y los milímetros de lluvia a los que estuvieron expuestos los excrementos, se concluye que las concentraciones hormonales en el excremento no se ven afectadas por variables climatológicas.

Los resultados indican que en algunas repeticiones, las concentraciones hormonales son mucho más altas de lo esperado, aún para el grupo de datos al que pertenecen, esto puede explicarse ya que durante el proceso de extracción de esteroides fue necesario utilizar

pequeñas partes del excremento (del tamaño de un garbanzo); todas las muestras tuvieron un tamaño semejante pero con peso diferente, por lo tanto se podía asumir que los cambios tan abruptos en las concentraciones hormonales resultaban por la diferencia de densidad en las muestras analizadas. Esta suposición pierde validez y se descarta debido a que alrededor del 95% de las muestras utilizadas tenían pesos cuyas diferencias no fueron mayores a 0.7 gramos.

Una vez descartadas las posibles fuentes de error y al determinarse que la concentración hormonal es heterogénea en todo el excremento, es necesario señalar aspectos clave del proceso digestivo para tratar de explicar la causa. Si se considera que las concentraciones hormonales en el excremento tienen su origen en la bilis, entonces puede suponerse que las concentraciones hormonales son heterogéneas en el excremento debido a la cantidad de bilis a la que está expuesto el quimo alimenticio cuando se encuentra en el duodeno. En este caso, existen cuando menos, cuatro variables decisivas que influyen en la concentración hormonal de lo que se convertirá en excremento: i) el metabolismo del animal; ii) la cantidad de quimo alimenticio; iii) la cantidad de bilis secretada y iv) los movimientos peristálticos del duodeno, los cuales determinan qué porción de quimo alimenticio se mezcla con bilis y durante cuánto tiempo.

Considerando este panorama, no es adecuado comparar las concentraciones hormonales entre excrementos de animales de vida libre si no se conoce el origen de la muestra, puesto que existen diferencias entre los metabolismos de adultos y juveniles porque la eficiencia del sistema digestivo es diferente según edad; se pueden encontrar diferencias significativas entre las concentraciones hormonales de un animal viejo y las de un juvenil.

Este trabajo es pionero en su concepción y desarrollo metodológico debido al procedimiento que se utilizó al haber realizado múltiples cuantificaciones hormonales en diferentes partes de un mismo excremento y cada porción analizada tenía una antigüedad diferente entre sí. Para realizar análisis hormonales en excrementos es necesario establecer un método riguroso en la selección del tipo de muestra, y de la porción de excremento a analizar y ajustar el número de excrementos que deban utilizarse dependiendo del objetivo de la investigación.

CONCLUSIÓN

Las concentraciones hormonales son heterogéneas en excrementos de los felinos de estudio.

Las pruebas de laboratorio complementarias indicaron que hay variaciones en periodos de 24 horas respecto a las concentraciones hormonales presentes en los excrementos.

Las variables extremas de un medio, como sequia y lluvia, no provocan cambios en la concentración hormonal temporal de los excrementos.

Los resultados de esta investigación indican que es necesario estandarizar el método de toma de muestra, ya que las concentraciones hormonales son heterogéneas a lo largo del excremento y una elección arbitraria para análisis hormonal puede llevar a resultados incorrectos, a pesar de que el procedimiento de inmunoanálisis sea técnicamente impecable.

BIBLIOGRAFÍA

- Aranda, M. 2000. Huellas y otros rastros de los mamíferos grandes y medianos de México. México. Instituto de Ecología, A.C.
- Baulieu EE, Robel P. 1990. Neurosteroids: a new brain function? J Steroid Biochem Mol Biol Journal 37: 395–403.
- Brousset Hernández-Jáuregui, D.M. *et al.* 2005. Cortisol en saliva, orina y heces: evaluación no invasiva en mamíferos silvestres. Revista Veterinaria México, 3:325-337.
- Cazón, A. V., V. D. Juárez, J. A. Monjeau & M. Lilienfeld. 2009. Discriminación de heces de puma (*Puma concolor*) y jaguar (*Panthera onca*) por identificación de sus ácidos biliares: una técnica para el monitoreo de carnívoros silvestres. Revista Mastozoología Neotropical, 2: 449-453.
- Díaz-Negrete, M. 2006. Niveles de Cortisol y estado endoparasitario de heces de jaguar (*Panthera onca*) y puma (*Puma concolor*) de vida libre, en el ejido Caobas, Quintana Roo, Tesis de Maestría, El Colegio de la Frontera Sur, Chiapas. México.
- Ishikawa A. *et al.* 2003. Changes in sexual behavior and fecal steroid hormone concentrations during the breeding season in female Hokkaido brown bears (*Ursus arctos yesoensis*) under captive condition. J Vet Med Sci ; 65(1):99-102.
- Julca-Otiniano, A, L. Meneses-Florián, R. Blass-Sevillano & S. Bello-Amez. 2006. La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. IDESIA, Chile. 24:1: 49-61.
- Kodzue K. *et al.* 2011. Daily fecal sex steroid hormonal changes and mating success in captive female cheetahs (*Acinonyx jubatus*) in Japan. Animal Reproduction Science. Volume 125:1, 204-210.
- Kodzuke K. *et al.* 2011. Long-Term Monitoring of Fecal Steroid Hormones in Female Snow Leopards (*Panthera uncia*) during Pregnancy or Pseudopregnancy. PLoS ONE, vol. 6, issue 5, p. e19314.
- Encuéntrese en: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0019314>
- Martínez-Romero, L.E., 2004. Determinación de fechas de aprovechamiento del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) a través de hormonas sexuales y comportamiento. Tesis de Maestría de Manejo de Fauna Silvestre. Instituto de Ecología, A.C.
- Palacios Martínez, D. Y. 2007. Cuantificación de hormonas esteroides sexuales y su relación con el ciclo estral en puma (*Puma concolor*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Pérez R. J. J., Aguilar S. S. A, Villa G. A. & Serrano H. 2005. Relación entre estructura y función de receptores para hormonas esferoidales: receptores estrogénicos. Revista Veterinaria México. 004:437- 452.
- Sachiko M. *et al.* 2001. Monitoring the Reproductive Status of Female Gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*) by Measuring the Steoid Hormones in Fecal Samples. Primates. 42(4): 291-999.
- Siiteri, P.K. 1981. Extraglandular oestrogen formation and serum binding of oestradiol: relationship to cancer. J. Endocrin. 89: 119-129.
- Togashi M. *et al.* 2009 .Plasma and fecal sex steroid hormone profiles during the estrous cycle in a Japanese serow (*Capricornis crispus*). J Reprod Dev. 55(4):412-7.
- Wasser, S.K., L. Risher & R. Steiner. 1988. Excreted steroids in primate feces over the menstrual cycle and pregnancy. Biol. Reprod. 55:393-399.
- Xiao-Jie Y. *et al.* 2011. Non-invasive determination of fecal steroid hormones relating to conservation practice in giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). Animal Biology, Volume 61:3, 335 – 347.



Álvaro José Villafañe Trujillo <villafanetrujillo85@gmail.com>

received

Jenny Sanchez <jennysanchez.rbt@gmail.com>
Para: villafanetrujillo85@gmail.com

28 de febrero de 2012 18:54

Dear author (s)

We have received your manuscript. Thanks

If you do not hear from us within 70 days please contact our
Administrative Editor to:

"Daisy Arroyo" <darroyom2.rbt@gmail.com>"

Warm regards,

Jenny Sánchez Campos
Revista de Biología Tropical/International Journal of Tropical Biology
and Conservation
Universidad de Costa Rica/University of Costa Rica
San Pedro, San José, Costa Rica
Teléfono (506)-2511-8982 / 5550
jenny.sanchez@ucr.ac.cr
<http://www.biologiatropical.ucr.ac.cr>

villafanetrujillo85@gmail.com

Técnica utilizada para Extracción de esteroides

Extracción con alcohol

- 1- Utilizar un vial de centelleo de 20 ml.
2. Registrar el peso del vial vacío con todo y tapa.
3. Llenar el vial con 10 ml de etanol al 90%.
- 4 Añadir al vial un trozo de excremento del tamaño de un garbanzo.
- 5 Cerrar bien el vial y agitar con fuerza.
6. Dejar reposar el vial durante 5 mins.
- 7 Decantar aproximadamente 3 ml de líquido en un tubo de 12x75.
8. Centrifugar durante 15 minutos a 3500 rpm.
9. Decantar el sobrenadante en un criotubo de polipropileno.
10. Secar la muestra (en un horno a 90 grados centígrados por un tiempo entre 24 y 48 horas).
11. Retirar el alcohol que hay en el vial y pesar nuevamente (peso del vial con excremento – el peso del vial vacío) = peso seco de la muestra.

Por lo tanto:

$$\text{Concentración hormonal final} = \frac{10 \text{ ml de alcohol} \times \text{concentración hormonal obtenida por RIA.}}{\text{Peso seco de la muestra.}}$$

Cuantificar las muestras a temperatura ambiente.

Técnica usada para Lectura mediante Radioinmunoensayo

Todos los componentes deben llevarse a temperatura ambiente (15-28°C) antes de su uso.

1. Tubos de ensayo: marcar cuatro tubos de ensayo de polipropileno (sin recubrir) 12x75 mm. Tubos T (cuentas totales) y NSB (unión no específica) en duplicado. Tubos recubiertos: marcar catorce tubos recubiertos de anticuerpo frente al estradiol: A (máxima unión) y B (hasta G por duplicado). Marcar tubos recubiertos de anticuerpos adicionales, también en duplicado, para controles y muestras pacientes.

2. Pipetear 100µl del calibrador cero A en los tubos NSB y A, y 100µl de cada uno de los calibradores B-G en los tubos correspondientes previamente marcados. Pipetear 100µl de cada control y de la muestra del paciente en los tubos preparados. Pipetear directamente en el fondo del tubo.

3. Añadir 1 ml de 125I Estradiol a todos los tubos. Mezclar en el Vortex.

4. Incubar durante 3 horas a temperatura ambiente (15-28°C).

5. Decantar. Eliminar toda la humedad visible para mejorar la precisión, dejar escurrir de 2 a 3 minutos. Golpear los tubos contra el papel.

6. Contar durante 1 minuto en un contador gamma.

Tabla de campo para esquematizar el tipo y proporción de los cambios que tuvieron los excrementos durante los periodos de monitoreo

DEGRADACIÓN FÍSICA GRUPO: _____ Individuo: <u>Puma imaginario.</u>		Día.	1	2	3	4
TIPO DE EXCREMENTO: Cualquiera en forma de segmentos sólidos.		Temperatura °C.	-	21	21	22
ANTIGÜEDAD DEL EXCREMENTO al inicio del monitoreo: <u>0 días.</u>		mm de lluvia.	-	10.4	50	0
FECHA: <u>Julio de 2011</u>		Repetición.	1	2	3	4
Superficie	Cambio					
	Tipo de superficie al inicio del monitoreo:					
	El excremento se fragmenta poco a poco.					
	El excremento no tiene cambios respecto al día anterior.					
	El excremento está mojado.					
	Reducción de superficie (reducción de bordes).					
	Superficie se aplasta.					
	El volumen de la superficie aumenta.					
	Superficie es lisa.					
	Superficie agrietada.					
	Indicios (menos del 25%)					
	En más del 25% de la superficie.					
	En más del 50% de la superficie.					
	En más del 75% de la superficie.					
	Toda la superficie está agrietada.					
	Superficie porosa.		.	.	.	.
	Indicios (menos del 25%)		.			
	En más del 25% de la superficie.			.	+	=
	En más del 50% de la superficie.					
En más del 75% de la superficie.						
Toda la superficie es porosa.						
Color	Color oscuro.	Negro	.	+	=	-
	En toda la superficie.		.			
	En más del 75% de la superficie.			.		
	En más del 50% de la superficie.				.	.
	En menos del 50% de la superficie.					
	En menos del 25% de la superficie.					
	Superficie con color brillante.	Negro	.	.		
	El excremento es brillante porque está mojado.					.
	En más del 75% de la superficie.		.			
	En más del 50% de la superficie.			.		
	En menos del 50% de la superficie.					
	En menos del 25% de la superficie.					
	Color opaco.	Café	.	-	.	+
	Indicios (menos del 25% de la superficie)					
	En más del 25% de la superficie.					
	En más del 50% de la superficie.		.	.	.	.
	En más del 75% de la superficie.					
	En toda la superficie.					
	Color blancuzco.		.	.	.	+
	Indicios (menos del 25% de la superficie)		<			
	En más del 25% de la superficie.			.	.	.
En más del 50% de la superficie.						
En más del 75% de la superficie.						
En toda la superficie.						
Exposición de residuos de dieta.	Pelos		.	.	.	+
	Pasto					
	Huesos					
	Tejido conectivo					

Acotaciones en la tabla y significados

Acotaciones	Significado	En caso de que el símbolo se encuentre en una categoría (ejemplos)	En caso de que el símbolo se encuentre en un porcentaje o proporción
+	Más que el día anterior.	El excremento esta mas agrietado, tiene un color más intenso respecto al color del día anterior, etc.	El área que ocupa un color, o tipo de superficie aumenta.
-	Menos que el día anterior.	El excremento esta menos blanquizco que el día anterior, esta menos poroso, esta menos agrietado etc.	El área que ocupa un color, o un tipo de superficie disminuye.
=	Igual que el día anterior.	Todos los aspectos de la superficie, color y residuos de dieta son iguales al día anterior.	No hay cambios de ningún tipo respecto al día anterior.
≠	Diferente al día anterior.	El excremento tiene los mismos colores oscuros y opacos que el día anterior pero ahora están en diferentes áreas del excremento.	Los porcentajes y tipos de color son iguales al día anterior pero la distribución en el excremento es diferente.
<	Lo mínimo (superficie menor a 1 cm ²)	Los cambios en el excremento son visibles pero ocupan un área menor a 1 centímetro cuadrado en todo el excremento.	Las características registradas el día de hoy son ligeramente menores respecto al día anterior.
•	Es el indicador que describe los cambios en el excremento, dependiendo de las variables en las que se encuentre en una misma repetición.	Este símbolo se coloca en la casilla en donde se registra la característica correspondiente al excremento en ese día.	Indica el porcentaje de los cambios paulatinos.

Forma de Interpretar los Resultados del Modelo Propuesto

SUPERFICIE POROSA

Día 1, Superficie porosa, menor al 25% de la superficie total.

Día 2, el área que ocupa la superficie porosa aumentó a más del 25% de la superficie total.

Día 3, el área de la superficie porosa no ha aumentado pero la superficie está más porosa que el día anterior.

Día 4, el área porosa no ha tenido cambios respecto al día anterior.

COLOR OSCURO

Día 1, el color oscuro corresponde a un color negro que abarca toda la superficie.

Día 2, el color oscuro es más negro con respecto al día anterior pero ocupa un área mayor al 75% de la superficie.

Día 3, no hay cambios en el color, pero el área que ocupa el color negro disminuyó.

Día 4, la intensidad del color oscuro se redujo, está ocupando la misma área que el día de ayer.

COLOR BRILLOSO

Día 1, la superficie del excremento tiene un color negro brillante en más del 75% de la superficie.

Día 2, no hay cambios en la intensidad del color brillante pero ocupa menos espacio que el día de ayer, ahora ocupa más del 50% de la superficie.

Día 3, la superficie del excremento ya no tiene un color brillante.

Día 4, la superficie del excremento tiene un color brillante porque está mojado.

COLOR OPACO

Día 1, el color opaco corresponde a un color café que ocupa más del 50% de la superficie del excremento.

Día 2, el color está más oscuro en relación al día anterior, ocupa la misma área en el excremento.

Día 3, no hay cambio respecto al color opaco del excremento ni al área que ocupa.

Día 4, el excremento está más opaco que el día anterior, sigue ocupado la misma área.

COLOR BLANCUZCO

Día 1, hay pequeños indicios de una coloración blanquizca, las áreas con este color no son mayores a 1 cm cuadrado.

Día 2, no hay cambios en el color, pero hay más áreas blanquizcas que el día anterior.

Día 3, no hay cambio respecto al color ni al área que ocupa.

Día 4, el color blanquizco sigue ocupando más del 25% de la superficie pero el color es más blanco que el día anterior.

EXPOSICIÓN DE RESIDUOS DE DIETA

En este caso el excremento no va a volver a taparse, solo se va indicar con un signo "+" que ese residuo de dieta está más expuesto que en días anteriores.

Día 1, 2 y 3, se observan pelos en una parte del excremento.

Día 4, los pelos que se han observado en los últimos días ahora están más expuestos.