

# Estrategias para recuperar mamíferos en riesgo





# Estrategias para recuperar mamíferos en riesgo

Alfredo Trejo Córdoba  
Demetrio Ambriz García  
María del Carmen Navarro Maldonado  
Bárbara Vargas Miranda

Compiladores



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

Unidad Iztapalapa



RECTOR GENERAL

Dr. José Antonio De los Reyes Heredia

SECRETARIA GENERAL

Dra. Norma Rondero López

UNIDAD IZTAPALAPA

RECTORA

Dra. Verónica Medina Bañuelos

SECRETARIO

Dr. Javier Rodríguez Lagunas

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE C. B. S.

Dr. José Luis Gómez Olivares

COORDINADOR DE EXTENSIÓN UNIVERSITARIA

Dr. Juan José Ambriz García

JEFE DE LA SECCIÓN DE PRODUCCIÓN EDITORIAL

Lic. Adrian Felipe Valencia Llamas

---

***Estrategias para recuperar mamíferos en riesgo***

Primera edición: 2024

ISBN: 978-607-28-3321-0

© UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA

Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco, Núm. 186,  
Col. Leyes de Reforma 1a. Sección, Alcaldía Iztapalapa,  
C.P. 09310, Ciudad de México

Impreso en México / Printed in Mexico

# Índice

Prólogo	7
Capítulo 1. ¿Es la reintroducción de especies una estrategia y herramienta adecuada para la recuperación y conservación de especies de fauna silvestre?	9
Capítulo 2. Aspiración de ovocitos por laparoscopia con fines de conservación y mejoramiento genético	27
Capítulo 3. Mamíferos en peligro de extinción: Un contexto global, una solución local	47
Capítulo 4. Desde las tinieblas: la historia de la musaraña del Volcán San Martín Tuxtla ( <i>Soricidae</i> , <i>Cryptotis nelsoni</i> )	59
Capítulo 5. Aplicación de la Bionanotecnología en la conservación de mamíferos en riesgo: Rumiantes domésticos y silvestres	79
Capítulo 6. ProJaguar Caño Negro, experiencias desde el Refugio Nacional de Vida Silvestre Mixto Caño Negro, Costa Rica	101
Capítulo 7. Vulnerabilidad de los murciélagos endémicos mexicanos al cambio climático: una revisión y recomendaciones para su conservación	121
Capítulo 8. Uso combinado de técnicas reproductivas para aumentar los porcentajes de gestación en ganado bovino	155
Capítulo 9. Vitricificación de ovocitos de Venado Cola Blanca como estrategia para su conservación	175
Capítulo 10. Cafetales con sombra: sitios alternativos para la conservación de mamíferos en Mesoamérica	197



## Prólogo

En el presente libro se han conjuntado esfuerzos de dos áreas relevantes del conocimiento nacional e internacional, vinculando aspectos de la biología de la conservación. Por un lado, está el área sobre el avance y aplicación de las Biotecnologías Reproductivas y, por el otro, la realidad que enfrentan las especies dentro de los Programas de Conservación en las regiones en que habitan y en las cuales el factor humano está presente de manera importante. Así vemos que, la conservación no solo se hace fuera de los sitios de distribución de los animales a través de sofisticadas técnicas de la reproducción animal asistida (*conservación ex situ*), sino que, además, en la toma de decisiones se debe considerar el hábitat, y las comunidades biológicas y antropológicas con las que las especies conviven. La multi e interdisciplinariedad y la participación de los pobladores involucrados en la problemática, permitirán la convivencia exitosa de las especies en los ecosistemas que han sido transformados y en cercanía de las actividades humanas.

La conservación de animales silvestres es compleja y requiere el acopio del esfuerzo de todos los participantes. Por ello, es de gran importancia considerar el avance de las biotecnologías de la reproducción, esmeradas en la obtención de un mayor número de crías saludables y en la conservación de material genético (gametos, embriones y células madre). Estas biotecnologías aplicadas en animales domésticos, con las debidas adecuaciones, permiten su aplicación en especies silvestres con todos los beneficios que ofrecen.

En el presente libro también se encontrarán ejemplos de *conservación in situ*, en los que se analizan las características del hábitat de las especies y se profundiza en la biología de éstas. Algunos programas han permitido demostrar a los pobladores que comparten con las especies silvestres el mismo hábitat, que es posible la convivencia armónica en beneficio mutuo, por lo que ya no es necesario el combate o el desplazamiento de la fauna. Mediante planes de coexistencia y de conservación, pueden adaptarse nuevas formas de aprovechamiento como el turismo rural, por ejemplo, para evidenciar la presencia de las especies silvestres a través del seguimiento de

---

huellas, o la obtención de fotografías de los ejemplares en vida libre, lo que ha beneficiado económicamente a los pobladores.

Finalmente, el libro ofrece divulgar la suma de esfuerzos de las diferentes disciplinas involucradas en la conservación de las especies. Esperamos que los lectores lo disfruten y se sumen a los esfuerzos en el tránsito de la conservación al aprovechamiento y, en el desarrollo de la conciencia de protección, respeto y cuidado al planeta, como estrategias para recuperar los mamíferos en riesgo que lo pueblan, aún en nuestra presencia.

Los compiladores

## Capítulo 1

¿Es la reintroducción de especies  
una estrategia y herramienta adecuada para la  
recuperación y conservación  
de especies de fauna silvestre?

Epigmenio Cruz Aldán  
María Gabriela Palacios Mendoza



## Introducción

En el mundo existen aproximadamente 5,500 especies de mamíferos, y de acuerdo con organismos nacionales e internacionales al menos 1,141 especies de estos mamíferos del mundo, están en algún nivel de riesgo o amenaza (IUCN, 2020).

La biodiversidad en el mundo aparentemente es muy grande, la riqueza de especies, manejando un cálculo muy conservador, nos indica que existen entre 5 a 10 millones de especies de animales en el planeta, así mismo esos cálculos nos indican que perdemos de 15,000 a 60,000 especies cada año. De acuerdo con la ONU, se extinguen al día 150 especies.

México cuenta con al menos 540 especies de mamíferos (González y Arroyo 2012). De acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010, tenemos 291 especies en alguna categoría de riesgo (54.3%) (DOF 2010). México se encuentra entre los 3 primeros lugares en cuanto al número de especies de mamíferos.

Son diversas las causas que están provocando y presionando a las especies y sus hábitats, para que cada día se incrementen los listados en los documentos que mencionan los diferentes estatus de amenaza en el mundo, tales como la Lista Roja de Especies Amenazadas, NOM 059 SEMARNAT 2010 y los apéndices de la CITES. Entre las principales amenazas destacan, la pérdida de hábitat, cacería, tráfico, obras de desarrollo, industria, contaminación, agricultura y ganadería entre otras. En México los ecosistemas que existen enfrentan un sinnúmero de amenazas mismas que presentan similares causas y consecuencias. Es preocupante ver, sin embargo, que las malas decisiones y políticas públicas están contribuyendo de manera importante en la pérdida de biodiversidad en el país.

## Los Zoológicos, UMA'S y PIMVS

La existencia de los zoológicos y centros donde se manejan especies bajo control humano se remontan a finales del siglo XVIII sin embargo, fue hasta el siglo XX que han alcanzado una evolución importante donde comenzaron con los planes de manejo reproductivo, lo que implicó un gran avance en los temas también de investigaciones en diferentes líneas como la nutrición, reproducción, conducta, medicina veterinaria, enriquecimiento ambiental

y todos enfocándose por lo general a apoyar los planes de conservación de las especies y su hábitat. En la actualidad la Asociación Mundial de Parques Zoológicos y Acuarios (WAZA, por sus siglas en inglés) establece que los zoológicos deben ser instituciones científicas serias y respetadas tanto por la comunidad científica como por la conciencia del público general. Deben ser líderes y mentores en la educación formal e informal en pro de la conservación. Su rol educacional debe ser relevante influenciando los valores y comportamiento de la gente (WAZA, 2005).

Los Zoológicos, unidades de manejo y conservación (UMA), los predios e instalaciones para el manejo de vida silvestre (PIMVS), así como las diferentes figuras que manejan vida silvestre deben apoyar activamente los programas de conservación en vida libre. Manejar las poblaciones silvestres manteniendo la salud genética para su viabilidad a largo plazo en caso de ser necesario el apoyo mediante mecanismos de reintroducción, translocación, garantizando la salud genética de sus poblaciones. Los zoológicos deben lograr el mejor standard posible de bienestar animal, entendiendo por bienestar animal el estado de satisfacción de las condiciones biológicas psicológicas y ambientes que requiere un animal para desarrollarse, vivir sano y expresar su conducta natural. Lo anterior se debe de manejar de manera muy independiente de consideraciones éticas y legales. No obstante, se deben regir y normar mediante leyes, normas, reglamentos, protocolos, así como por personal calificado y con experiencia (WAZA, 2005).

## El trabajo *in situ-ex situ* y su importancia

Sin duda alguna la combinación del trabajo *ex situ* e *in situ* resulta de gran utilidad para conocer a las especies tanto en su hábitat con el fin de entender la conducta innata y su historia natural en los sitios donde habitan, así como el manejo que se le puede dar bajo condiciones controladas. De esta manera aprender muy de cerca cuales son los requerimientos básicos, de alimentación, espacio, conducta, territorio, reproductivos, crianza, desarrollo, entre otros, brindándole un manejo muy cercano o parecido a los requerimientos necesarios en los lugares donde habitan.

En más de 33 años de trabajo ininterrumpido manejando vida silvestre tanto bajo manejo controlado (*ex situ*), así como, pasando grandes tempore-

radas en las áreas silvestres estudiando y observando la vida y conducta de numerosas especies de la fauna y flora silvestre del sureste del País, se pudieron establecer parámetros, protocolos, manejos y requerimientos de las especies silvestres en su hábitat natural, lo que dio como resultado que al combinar dichas observaciones y aprendizajes pudiéramos realizar un mejor trabajo en pro de la conservación de las especies, es decir podemos sin duda alguna aplicar y combinar los conocimientos para lograr, el manejo y reproducción de las especies con fines de conservación (Epigmenio Cruz, comunicación personal).

## La importancia de las comunidades rurales

Todo lo anterior no podía ser posible si no tomamos y hacemos partícipes de estos trabajos, investigaciones y estudios a las comunidades rurales, quienes aprovechan, manejan, viven de los recursos naturales que los diferentes ambientes nos ofrecen. Además, estas comunidades que viven y conviven de manera cotidiana con la biodiversidad en los lugares o sitios silvestres, tienen un amplio conocimiento de éstos, por ello es tan valioso el retroalimentarse e intercambiar los conocimientos ya que sin duda alguna esto nutre y enriquece (Figura 1).



**Fig. 1. Trabajo comunitario.  
Fotografía Epigmenio Cruz.**

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas (ONU), Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), Unión Internacional para Conservación de la Naturaleza (UICN), Lista Roja (RED LIST), así como otras tantas organizaciones que se dedican a trabajar e investigar nuestros recursos naturales, nos informan cómo está la situación y la preocupación por las amenazas y peligros que las especies y sus poblaciones están pasando. Otras más como los Zoológico, Criaderos, Acuarios, UMA y PIMVS entre otras, luchan con el día a día para establecer programas y proyectos que además de ofrecer líneas de investigación, educación, enseñanza, todos con fines de conservación, trabajan con especies claves, paraguas, emblemáticas, prioritarias para apoyar estos procesos y programas de conservación. Las políticas públicas y los gobiernos se ven rebasados en la práctica y puesta en marcha de muchos programas y proyectos sobre todo en aquellos en los que no existe una recuperación tangible o económica, pero que, sin embargo, aportan importantes beneficios y servicios ambientales.

## Los programas de manejo controlado ¿son un apoyo para la conservación?

La experiencia ganada durante algunos años, en el conocimiento y manejo de la biodiversidad, los recursos naturales y sobre todo de las especies que se encuentran en alguna categoría de riesgo, será determinante para lograr los objetivos de recuperación y conservación de las especies y su hábitat. Hoy en día los esfuerzos son grandes, así como las expectativas para iniciar ya, con los proyectos para lograr la recuperación de diferentes especies de la biodiversidad del país.

El trabajo ordenado y bien planeado, así como sus metas y alcances dará como resultado sin duda alguna, grandes esperanzas para la recuperación de especies en riesgo o bien para apoyar en su conservación.

El papel de los sitios donde se maneja vida silvestre es de enorme importancia y trascendencia, ya que es de ahí de donde podemos tomar los recursos genéticos para hacer crecer y conservar las poblaciones que requieren un importante apoyo y manejo para su permanencia y conservación, estos sitios al manejar, reproducir, rehabilitar a las especies de la vida silvestre aportan importantes recursos, mismos que mediante un buen manejo,

programa y proyecto, pueden ser reintroducidos a los ambientes naturales donde han sido casi exterminados y de esta manera mediante un buen programa de monitoreo y seguimiento conocer la situación y tendencia de las poblaciones.

## Algunos ejemplos de éxito para México

Recuperación del Bisonte Americano *Bison bison* en Chihuahua, esta especie que casi fue extirpada de México en la segunda mitad del siglo XIX, en la actualidad las poblaciones de la especie bisonte americano se recuperan de manera importante gracias al apoyo de diferentes asociaciones y grupos, se ha logrado su recuperación (CONANP, 2020).

Otra especie que sin duda también ha sido beneficiada por el cuidado y reproducción bajo manejo humano controlado evitando la pérdida definitiva es el lobo mexicano *Canis lupus baileyi* especie que se consideró extinta a finales de los años setenta, No obstante, gracias a un largo trabajo bajo manejo humano controlado hoy la población aumenta en una franca recuperación de la especie y su hábitat (CONANP, 2016).

En 2004, 2008 y 2013 en la Reserva de la Biosfera La Encrucijada en Chiapas, México, se propone el programa de recuperación del pecarí de collar *Pecari tajacu* con la finalidad de recuperar las poblaciones de la especie en la zona, ya que desde hace unas 5 décadas ha desaparecido del lugar debido a la pérdida del hábitat y la cacería, Cruz, 2013.

El ZooMAT Zoológico Regional Miguel Álvarez del Toro en conjunto con la CONANP de México emprendieron la propuesta de reintroducir y recuperar a la especie en la Reserva de la Biosfera La Encrucijada (Figura 2). Se inicia con el programa de reproducción de la especie con excelentes resultados, sin embargo, el programa reproductivo se ve truncado por un brote de tuberculosis en las instalaciones del Zoológico en el año 1999-2000, lo que provocó por Norma Oficial Mexicana NOM-031-ZOO-1995 el exterminio de la población total.



Fig. 2 Reintroducción del pecarí de Collar en la Encrucijada.  
Fotografía Epigmenio Cruz.

Después de cuatro años y aplicar todos los protocolos sanitarios, se reinició el proyecto, obteniendo excelentes resultados en la reproducción, así como el control de enfermedades. Una vez establecidos los protocolos, pruebas médicas, permisos necesarios y todos los detalles del proyecto, procedimos a la liberación o reintroducción de 20 ejemplares en alguno de los islotes de la Reserva (áreas aisladas por las mareas dentro de los terrenos de la reserva), se da seguimiento en base a los programas y proyecto obteniendo excelentes resultados, entre los que destacan; el establecimiento de la piara, alimentarse y adaptarse perfectamente al área y por último la reproducción de los ejemplares iniciando así el aumento de los individuos en la población. De acuerdo con las fases del proyecto en dos momentos diferentes se llevaron ejemplares como refuerzos para la salud genética de la población en la zona, uno en 2008 y otro en 2013. Hoy en día la especie se ha recuperado de manera importante en la reserva de la Biosfera La Encrucijada, a pesar de que sigue la actividad de caza en la región (Epigmenio Cruz, comunicación personal).

En 2021, en la Reserva de la Biosfera Sian Ka'an, Quintana Roo, es liberado un jaguar macho que fue atropellado recibiendo importantes lesiones, afortunadamente no ponían en riesgo la vida del ejemplar y sus lesiones fueron atendidas (Figura 3). Después de ser llevado a las instalaciones del Zoológico Payo Obispo en Chetumal, Q. Roo, con fines de recuperación, se le atendió

y se le mantuvo en espacios adecuados para su recuperación, alimentación y actividad conductual, así como médicas clínicas. Después de más de tres meses de recuperación, atenciones y observando que el ejemplar ya se había recuperado, se prosiguió con el plan de liberación. Una vez establecido con las instituciones como la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), Dirección General de Vida Silvestre (DGVS), International Found for Animal Welfare IFAW, la Alianza Nacional para Conservación del Jaguar (ANCJ) y las autoridades estatales y del Zoológico, se define una fecha en la que se libera con un radio collar satelital para poder dar seguimiento al ejemplar y saber que sucede con el mismo (Epigmenio Cruz, comunicación personal).



**Fig. 3 Liberación de jaguar macho.**  
Fotografía Epigmenio Cruz.

En la Reserva de la Biosfera de Calakmul, Campeche, son rescatados por personal de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) un par de hembras de jaguar de escasos 15 días de vida en el año 2016. Dichos ejemplares se trasladan al Zoológico Jaguar Xoo, en el Estado de Oaxaca, lugar donde se les dio la atención necesaria para rehabilitar a los ejemplares para ser devueltos a la vida silvestre, después de 4.5 años de haber sido rescatados. En 2021 son liberados en Solferino, Q. Roo (Figura 4). Equipados con collares de radiotelemedría satelital para dar seguimiento a los ejemplares. Después de más de 8 meses de seguimiento se observó que los

ejemplares se han integrado a las poblaciones de jaguares del lugar. Un resultado de gran importancia es el regreso de genes a la vida y poblaciones silvestres de los jaguares en Q. Roo (Epigmenio Cruz, comunicación personal).



**Fig. 4 Liberación de Jaguares en Solferino Q. Roo.**  
Fotografía Andrea Reyes Jiménez.

En 2016, se reintroduce una tropa de mono araña *Ateles geoffroyi* en el Parque Nacional Cañón del Sumidero en el Estado de Chiapas, México (Figura 5). La tropa se integró por ejemplares rescatados en diferentes momentos en el Estado de Chiapas, después de importantes trabajos durante casi 4 años con los ejemplares, se rehabilitan y se determinó cuales estaban aptos para ser liberados, en la actualidad la tropa se mantiene y se está reproduciendo con éxito (Epigmenio Cruz, Comunicación personal).



**Fig. 5 Reintroducción del Mono Araña en el Cañón del Sumidero.  
Fotografía Epigmenio Cruz.**

Desde hace más de 10 años se trabaja en una propuesta para reintroducir al Pecarí de Labios Blancos *Tayassu pecari* en la Reserva de la Biosfera Selva El Ocote REBISO, (Figura 6). Esperamos pronto estar realizando esta importante reintroducción con el apoyo de diferentes Unidades de manejo que están aportando los ejemplares para conformar una piara mínima de 20 individuos. Todos provenientes de los esfuerzos del manejo controlado de la especie.

Posterior a su integración y habilitación y claro, cumpliendo con todos los requisitos y protocolos necesarios, serán liberados reintroducidos en la REBISO, monitoreando a la piara por mínimo 3 años y reforzando con nuevos ejemplares durante 3 a 5 años con el fin de fortalecer la salud genética de las poblaciones (Epigmenio Cruz. comunicación personal).



**Fig. 6 Reintroducción del pecarí de Labios Blancos en Chiapas.  
Fotografía Epigmenio Cruz.**

Por último, se trabaja en la propuesta de rescate, manejo, reproducción y conservación del Tapir, *Tapirus bairdii* en Yucatán, México (Figura 7). El tapir, especie que estamos perdiendo de manera importante en México. El mayor herbívoro silvestre, del que hemos perdido más del 60% de su población y hábitat (Cruz et al. 2009). Actualmente se realiza una investigación de campo con el fin de conocer la situación de la especie en las áreas de distribución en México.



Fig. 7 Programa de Conservación del Tapir en Yucatán.  
Fotografía Archivo Libera.

Encontrando que de 8 Estados donde se tenía presencia de la especie solo nos queda en 4 Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo y Campeche, en el Estado de Yucatán la especie desapareció por diversos factores hace más de 60 años. El Grupo Libera, conformado por empresarios yucatecos, toman la decisión de invertir en la recuperación de la especie y su hábitat, por lo que dan inicio a un importante programa de rescate, recuperación, manejo, reproducción y reintroducción de la especie.

El programa tiene 5 ejes principales, 1, establecer la UMA y pie de cría de la especie, reproducirla y habilitarla para la reintroducción de ejemplares. 2, un amplio y ambicioso programa educativo en el Estado de Yucatán, con el

fin de integrar a las comunidades como parte del proyecto de conservación, en el que además participarán diferentes actores, gobiernos, academia, organizaciones de la sociedad civil entre otros. 3, Programa de investigación tanto *ex situ* como *in situ*. 4, Programa de capacitación y enseñanza que se desarrollará en las instalaciones de la UMA y 5, programa de conservación para la especie y su hábitat, con el fin último de inyectar vitalidad genética en las poblaciones, recuperar a la especie y su hábitat e incidir en el cambio sobre la conducta de las comunidades con la especie. Pretendemos que se controle la cacería y que se contribuya con un turismo de conservación, fotografía y orgullo en la recuperación de la especie en Yucatán (Epigmenio Cruz, comunicación personal).

En todos los ejemplos anteriores han participado las unidades de manejo y conservación (UMA), que se dedican al manejo, educación, investigación, enseñanza, exhibición y conservación de la vida silvestre, por lo que sin duda alguna los programas de manejo controlado con fines de reintroducción para la conservación de la biodiversidad, juegan un importante papel. Sin duda alguna es la reintroducción de especies manejadas bajo control humano o manejo profesional, previamente habilitadas o rehabilitadas para ser reintroducidas a la vida silvestre una importante herramienta que apoyará los programas de recuperación y conservación de aquellas especies que tienen fuertes presiones de amenazas o están en grave peligro de extinción.

Debemos apoyar estas iniciativas que están bien canalizadas, fundamentadas y que cumplen con todos los estándares, mecanismos, protocolos. Que cuentan con experiencia instalada de profesionales con ética, honorabilidad, seriedad y recursos para llevar a cabo este tipo de programas. Sumando la experiencia de muchos años, las voluntades, el enorme acervo que se ha generado en el manejo bajo control humano de las especies en el mundo. Sin duda alguna esta herramienta está lista y disponible para apoyar en la recuperación de todas las especies en la vida silvestre, solo nos falta usarla, manejarla con ética y responsabilidad para que los resultados se puedan reflejar en verdaderos programas de recuperación y conservación.

## Bibliografía

Asociación Mundial de Zoos y Acuarios, WAZA. (2005). *Construyendo el futuro para la Fauna Salvaje. La Estrategia Mundial de los Zoos y Acuarios para la Conservación*. Asociación Mundial de Zoológicos y Acuarios WAZA. Berna, Suiza. Pp. 72.

Álvarez del Toro, M. (1977). *Los mamíferos silvestres de Chiapas*. Gobierno del Estado de Chiapas. México pp.

Batllore-Sampedro, E., González-Piedra, J. I., Díaz-Sosa, J., & Febles-Patrón, J. L. (2006). *Caracterización hidrológica de la región costera noroccidental del estado de Yucatán, México*. Investigaciones geográficas, (59), 74-92.

Bodmer, R.E., Fang, T.G. & Moya, L. (1988). *Estudio y manejo de los pecaríes (Tayassu tajacu y T. pecari) en la Amazonía peruana*. Matero Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Lima. 2:18-25 pp.

Byers, A. J. & Bekoff, M. (1981). *Social, spacing, and cooperative behavior of the collared peccary, Tayassu tajacu*. Journal of mammalogy, 62(4), 767-785.

Byers, A. J. (1983). *Social interactions of juvenile collared peccaries Tayassu tajacu (mammalia: artiodactyla)*. Journal of Zoology, 201(1), 83-96.

Kurt Benirschke, Arlene T. Kumamoto, Dennis A. Meritt, *Chromosomes of the Chacoan peccary, Catagonus Wagneri (Rusconi)*, Journal of Heredity, Volume 76, Issue 2, March 1985, Pages 95-98,

Benirschke, K., Arlene, T. K., & Merrit, D. A. (1985). *Chromosomes of the chacoan peccary Catagonus wagneri (rusconi)*. The Journal of Heredity, 76(2), 95-98.

Cruz, A. E. (1990). *Comportamiento Social y Reproductivo del Pecari de Labios Blancos Tayassu pecari en cautiverio*. Tesis de Licenciatura (ECOSUR).

Cruz, A. E., Eduardo N. P; Darío M. G A; Consuelo L. M. (2000). *Hábitos alimentarios del tapir en la Reserva de la Biósfera la Sepultura, Chiapas, México*.

Cruz, A. E. Espinoza, M. E., Lira, T. I., & Ganseco, C. A. 2002. *Los mamíferos de la Sepultura*. Revista Biología Tropical, 52(1), 249-259.

Chapman, F.M. (1936). *White-lipped peccary*. Natural History. 38:408-413 pp.

Donkin, R. A. (1985). *The Peccary - with observations on the introduction of pig, to the new world*. The Transactions of the American Philosophical Society, 75(5), 152.

González, G. J. C., & Arroyo-Cabrales, J. (2012). Lista Actualizada de los mamíferos de México 2012. Revista Mexicana De Mastozoología (Nueva Época), 2(1), 27–80.

Güiris, A.M. (2002). Tesina Doctoral Filosofía de la Investigación. Universidad de la Habana Cuba.

<https://www.gob.mx/conanp/prensa/bisonte-americano-es-reintroducido-exitosamente-en-el-norte-de-mexico>

<https://www.gob.mx/semarnat/articulos/el-regreso-del-lobo-mexicano>.

Heymer, A. (1982). *Diccionario etológico*. Editorial. Omega, Barcelona, España. 286 pp.

Kiltie, R.A. (1980). *Application of search theory to the analysis of prey aggregation as an antipredation tactic*. Journal of theoretical biology, 87(1), 201-6.

Kiltie, A. R. (1982). *Bite forces as a basis for niche differentiation between rain forest peccaries *Tayassu tajacu* and *Tayassu pecari**. Biotropica, 14(3), 188-195.

Kiltie, A.R. (1981). *Distribution of palm fruits on a rain forest floor: why white-lipped peccaries forage near objects*. Biotropica, 13(2), 141-145.

Kiltie, A. R. (1981). *The function of interlocking canines in rain forest peccaries (tayassuidae)*. Journal of mammalogy, 62(3), 459-469.

Kiltie, A. R. (1980). *More on amazon cultural ecology*. Current anthropology, 21, 541-546.

Kiltie, A. R., & Terborgh, J. (1983). *Observations on the behavior of rain forest peccaries in Peru: Why do white-lipped peccaries form herds?* Zeitschrift für Tierpsychologie, 62(3), 241-255.

Kiltie, A. R. (1981). *Stomach contents of rain forest peccaries *Tayassu tajacu* and *Tayassu pecari**. Biotropica, 13(3), 234-236.

- Lehner, N. P. (1979). *Handbook of ethological methods*. Garland STPM. New York.
- Leopold, S. A. (1959). *Fauna silvestre de México*. Ed. IMERNAR México 560-568.
- March, Y. J. (1986). *Crianza experimental del pecari de collar Tayassu tajacu en la Selva Lacandona*, Chiapas. INIREB-CONACYT, informe técnico final, México 215 pp.
- March, I.J. (1987). *Los Lacandones de México y su relación con los Mamíferos silvestres: un estudio etnozoológico*. Biotica, INIREB, México en prensa.
- March, I.J. (1990). *Evaluación de hábitat y situación actual del pecarí de labios blancos Tayassu pecari en México*. Tesis de Maestría. Programa Regional en Manejo de Vida Silvestre para Mesoamérica y El Caribe. Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. 237 pp. + 27 figs.
- Mayer, J.J. & Wetzel, M. R. (1987). *Tayassu pecari*. *Mammalian Species*, 293,1-7.
- OCKENFELS, R.A. et.al. 1986. *Proceeding of the peccary workshop*. The wildlife soc. Arizona game depto.
- Ojasti, J. (2000). *Manejo de Fauna Silvestre Neotropical*. F. Dallmeier (ed.). SIMAB Series. No 5 Smithsonian Institution/MAB Program, Washington D.C.
- Packard, M. J., Babbitt, K.J., Hannon, P. G. & Grant, E. E. (1990). *Infanticide in captive collared peccaries (Tayassu tajacu)*. *Zoo Biology*, 9(1), 49-53.
- Painter, L., Rumiz, D., Guinart, D., Wallace, R., Flores, B., & Townsend, W. (1999). *Técnicas de Investigación para el Manejo de Fauna Silvestre*. Colombia.
- Ralph, C.J., Geupel, G. R., Pyle, P., Martin, T. E., De Sante, D. F., & Milia, B. (1993) *Manual de Métodos de Campo para el Monitoreo de Aves Terrestres*.
- Roots, (1986). *Notes on the breeding of white lipped peccaries*. *International zoo yearbook* 6: 198-199.
- Sowls, L.K. (1984). *The peccaries, the University of Arizona*. Press, Tucson 96-140; 143-160
- Tarrés, R. R. (1987). *Manual de Técnicas de Gestión de Vida Silvestre*. United States of America for The Wildlife Society.

Villaseñor, J.F. (1988). *The importance of the Agricultural Border Strips in the Conservation of North American Migratory Landbirds in Western Mexico*. University of Montana.



## Capítulo 2

# Aspiración de ovocitos por la paroscopia con fines de conservación y mejoramiento genético

Horacio Álvarez Gallardo

Adriana Velázquez Roque

Fernando Villaseñor González

Michael Edward Kjelland

Salvador Romo García



## Contexto de la producción de embriones

Actualmente, la producción in vitro de embriones (PIV) y la transferencia de embriones (TE) han tenido un gran impacto en la producción animal. En el caso del ganado bovino la PIV es ampliamente aplicada y la gran mayoría de los embriones producidos a nivel mundial son generados por esta tecnología de acuerdo con los datos reportados por la Sociedad Internacional de Tecnologías Embrionarias (IETS) (Viana, 2021). En el caso particular de los pequeños rumiantes, la producción in vivo de embriones (IVD) o mejor conocido como MOET (multiovulación y transferencia de embriones), es el principal método utilizado para generar embriones. La colecta de embriones se realiza por el método quirúrgico (laparotomía), sin embargo, esta técnica tiene muchos inconvenientes, entre los que destacan las adherencias y el trauma postoperatorio, el tiempo prolongado entre un procedimiento y otro (Jorge-Neto *et al.*, 2018), lo cual hace que solamente se pueda repetir el proceso de 4 a 5 veces en la gran mayoría de las donadoras.

Una de las razones de la amplia aplicación de la PIV en bovinos, respecto a otras especies, es el avance en otras tecnologías reproductivas como la aspiración folicular la cual ha permitido la colección repetida y eficiente de ovocitos a partir de donadoras vivas (Galli *et al.*, 2001) sin afectar el bienestar animal de las mismas (Chastant-Maillard *et al.*, 2003; Petyim *et al.*, 2007; Currin *et al.*, 2017). La colección de ovocitos se puede realizar mediante aspiración folicular guiada por ultrasonido (ovum pick up por sus siglas en inglés; OPU) en especies mayores como los bovinos o por aspiración folicular vía laparoscópica (LOPU) en pequeños rumiantes (ovinos, caprinos, cérvidos y becerras) (Baldassarre, 2021).

De acuerdo a lo anterior, la producción in vitro de embriones en pequeños rumiantes (PIV) también constituye una herramienta para el mejoramiento genético y para la conservación de gametos y embriones, mediante LOPU. Esta herramienta es altamente repetible, poco invasiva (ya que no genera adherencias) y con poco tiempo de ejecución (15 minutos aproximadamente por donadora). El periodo entre procedimientos puede ser de 14 días, lo cual es considerablemente menor comparado con los 60 días para obtener embriones mediante laparotomía (Jorge-Neto *et al.*, 2018), sin em-

bargo, se requiere de personal altamente capacitado y de un laboratorio de producción *in vitro* de embriones.

De acuerdo con las estadísticas mostradas por la IETS (Tabla 1), la PIV se utiliza comercialmente, pero en menor grado comparado con la IVD, lo cual ocurre principalmente en Norteamérica. Aunque en el caso de los caprinos, se puede observar una tendencia al alta en el uso de la PIV, según lo reportado por la IETS en 2020 (Viana, 2021).

**Tabla 1. Producción *in vivo* e *in vitro* de embriones bovinos, ovinos y caprinos en 2020 por región (Viana, 2021).**

Región	Bovinos		Ovinos		Caprinos	
	IVD	PIV	IVD	PIV	IVD	PIV
África	2,7633	4,977	0	0	0	0
Asia	0	0	0	0	0	0
Europa	126,491	47,470	966	0	346	0
Norte América	196,704	578,995	9,204	141	10,757	2,275
Oceanía	4,211	14,345	12,427	0	1,890	0
Sudamérica	31,559	500,397	7,222	0	184	0
<b>Total 2020</b>	<b>361,728</b>	<b>1,156,422</b>	<b>29,819</b>	<b>141</b>	<b>13,177</b>	<b>2,275</b>
<b>Total 2019</b>	<b>387,769</b>	<b>1,031,567</b>	<b>22,374</b>	<b>1,137</b>	<b>8,725</b>	<b>748</b>

IVD: embriones producidos *in vivo*

PIV: embriones producidos *in vitro*

## Generalidades de la LOPU

La LOPU es una técnica muy confiable y eficiente para coleccionar ovocitos de alta calidad de animales vivos y en algunos casos animales de edad avanzada, lo que permite su uso para la PIV. Esta técnica tiene aplicación en ovinos, caprinos, bovinos y búfalos (Jorge-Neto et al., 2018; Baldassarre, 2021), cérvidos (Locatelli et al., 2006; Baldassarre, 2021) y especies silvestres como el jaguar (Jorge-Neto et al., 2023). La repetición de la LOPU en la misma do-

nadora no causa secuelas con impacto en la vida reproductiva de la hembra, incluso cuando se realiza en animales prepúberes o silvestres. Otra ventaja de la LOPU es que se puede realizar en pequeños rumiantes aun cuando se encuentren fuera de temporada reproductiva, además de poder aplicarla en animales prepúberes, incluidos los bovinos y los búfalos (Jorge-Neto et al., 2018; Currin et al., 2021; Sousa et al., 2022).

En pequeños rumiantes, la LOPU asociada con la PIV y la TE es la forma más eficiente de producir una mayor cantidad de crías a partir de hembras con genética y productividad sobresaliente. En programas de mejoramiento genético, esto permite incrementar el diferencial de selección, así como el intervalo generacional y de esa manera acelerar la velocidad del progreso genético.

La LOPU se puede realizar tanto en el quirófano como a nivel de campo y se realiza bajo anestesia con ketamina (5 mg/kg IM) más xilazina (0.2 mg/kg IM) previo ayuno de 24 horas. Una vez anestesiada, la donadora es colocada en la clásica camilla de inseminación artificial en ovinos, es rasurada y desinfectada en la zona abdominal, en la región hipogástrica. La donadora es colocada con la cabeza hacia abajo en un ángulo aproximado de 45-60 grados, de tal modo que los órganos digestivos se descansen sobre el diafragma y permitan visualizar el útero y los ovarios, mediante un endoscopio de 0° (preferentemente de 5 mm de diámetro), asociado con tres trocares (un trócar para el endoscopio, otro para una pinza atraumática y otro para el mandril de aspiración, todos preferentemente de 5 mm) (Figura 1) para poder acceder a la cavidad abdominal, lo que nos permite realmente minimizar el grado de trauma quirúrgico. Para aumentar la capacidad de visualización, se realiza un neumoperitoneo, insuflando la cavidad abdominal con CO<sub>2</sub>. El mandril de aspiración está compuesto por tubo de acero inoxidable o acrílico de 5 mm de diámetro, unido a una aguja de 20G la cual se conecta a una manguera siliconizada que desemboca en un tubo de colección de 50 mL el que a su vez está conectado con la bomba de vacío (Figura 2). La presión de vacío se gradúa a una velocidad de 50-70 gotas por minuto. Una vez que los 3 trócares han sido debidamente insertados y se han introducido a través de ellos el laparoscopio, la pinza de sujeción atraumática y la pipeta de aspiración, se procede con la punción folicular. Para realizar la punción folicular, el ovario se sujeta con la pinza atraumática y se gira en diferentes

direcciones para ver toda la superficie del ovario y así puncionar todos los folículos de más de 2 mm de diámetro. El procedimiento se repite en ambos ovarios y se lavan los ovarios con solución fisiológica heparinizada, a los efectos de eliminar cualquier resto de sangre y que no se formen adherencias (Baldassarre, 2021).

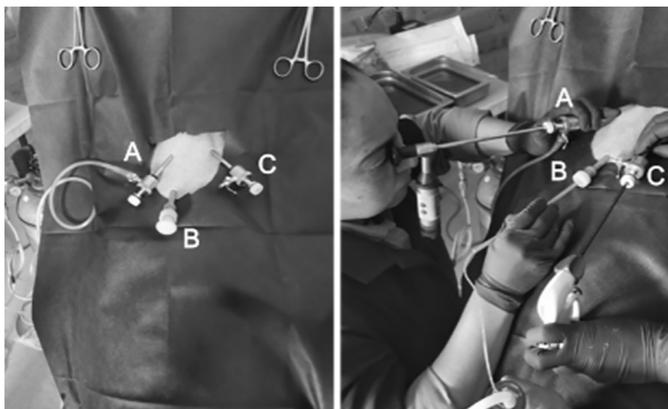


Figura 1. Posición de los trócares, endoscopio, pinza y mandril de aspiración.

A) Camisa en la que se coloca el endoscopio.

B) Camisa en la que se coloca el mandril de aspiración.

C) Camisa en la que se coloca la pinza atraumática para sujetar el ovario.

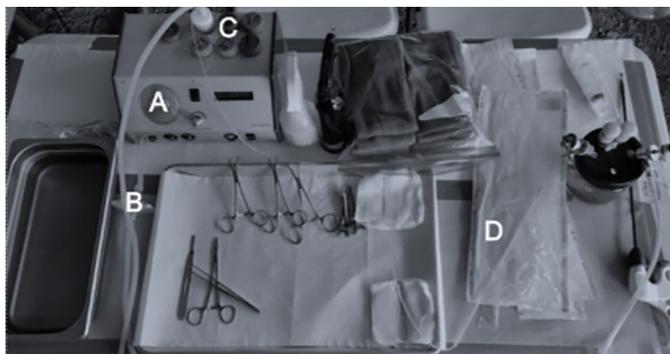


Figura 2. Sistema de aspiración.

A) Bomba de aspiración. B) Manguera y filtro de vacío.

C) Tubo de colecta. D) Mandril de aspiración.

Otro aspecto por resaltar es que se requiere de estimulación hormonal con FSH en las donadoras, debido a que los ovarios generalmente son pequeños y con el fin de facilitar la punción, además de que la calidad y competencia de los ovocitos es mayor (Palma *et al.*, 2001; Baldassarre *et al.*, 2007; Baldassarre, 2021). Se ha reportado que la estimulación con FSH cada 8 horas iniciando 36 horas antes de la LOPU y cambiando la última aplicación por eCG en becerras produjo embriones de forma similar a los obtenidos con donadoras adultas (Baldassarre *et al.*, 2018). Es importante aplicar prostaglandina F<sub>2α</sub> previo a la LOPU debido a que, si hay presencia de algún cuerpo lúteo, los sangrados son mayores debido a la alta irrigación en dicha estructura (Figura 3) (Vilá *et al.*, 2007).

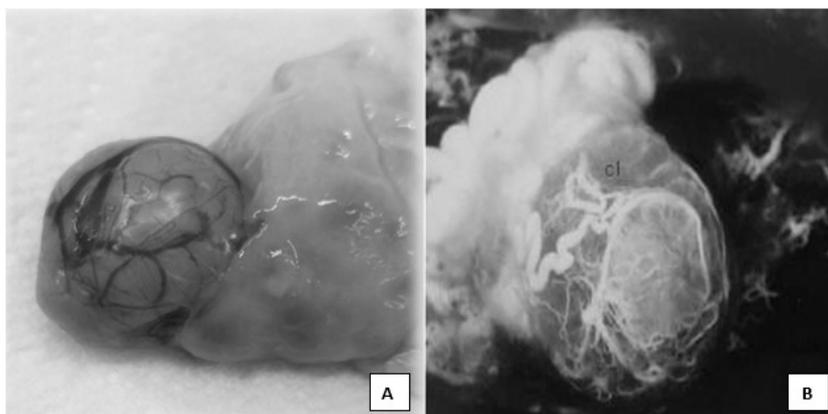


Figura 3. Vascularización de un cuerpo lúteo en ovinos: A) Vascularización un cuerpo lúteo en ovario de rastro; B) Radiografía de la vascularización de un cuerpo lúteo con medio de contraste (Vilá *et al.*, 2007).

## Evaluación de protocolos de estimulación ovárica en becerras prepúberes para producción *in vitro* de embriones

Actualmente, una de las principales aplicaciones de la LOPU es en animales prepúberes, existen reportes de colección de ovocitos de becerras de 2 meses de edad, esto se debe a que mediante la aspiración de hembras prepúberes,

se disminuye el intervalo generacional y con esto se acelera el mejoramiento genético (Baldassarre *et al.*, 2018). El primer reporte de PIV a partir de becerras prepúberes fue en 1992 (Amstrong *et al.*), en este trabajo colectaron ovocitos por LOPU de becerras de 3 a 8 semanas de edad, consiguiendo 1 cría nacida después de las transferencias. Sin embargo, los resultados de PIV a partir de ovocitos de becerras prepúberes habían sido bajos, alrededor de 10% de blastocistos (Currin *et al.*, 2017; Velázquez *et al.*, 2019). En la actualidad existen protocolos de estimulación ovárica para la eficiente PIV a partir de hembras prepúberes. Estos tratamientos consisten en la aplicación de gonadotropinas exógenas a diferentes intervalos de tiempo entre aplicaciones. El protocolo que mejores resultados ha tenido requiere de 5 inyecciones de FSH cada 8 horas acompañadas de una dosis de eCG (Baldassarre *et al.*, 2018), este protocolo tiene el inconveniente de requerir muchos manejos, lo que lo hace muy laborioso e incómodo para las donadoras, por lo que se requiere de un protocolo con menor número de aplicaciones de FSH. Derivado de esto se evaluaron tres protocolos de estimulación con el objetivo de reducir los manejos.

Se evaluaron tres protocolos de estimulación con 15 becerras de 3 meses (5 hembras por cada protocolo): 1) el día 0 se colocó un dispositivo intravaginal para borregas (DIV) de 0.3 g de progesterona, el día 2 se inició con la aplicación de FSH (purificada) cada 8 horas en 5 aplicaciones + eCG en la sexta aplicación (8 h después de la aplicación 5 de FSH) y en el día 5 se retiró el DIV y se realizó la LOPU; 2) de la misma forma que en el protocolo 1 con la diferencia de que se realizaron 4 aplicaciones de FSH cada 8 horas + eCG en la quinta aplicación; 3) de la misma forma que en el protocolo 1, solo que aquí se realizó una aplicación de FSH + eCG en el día 2. Los protocolos se resumen en la figura 4.

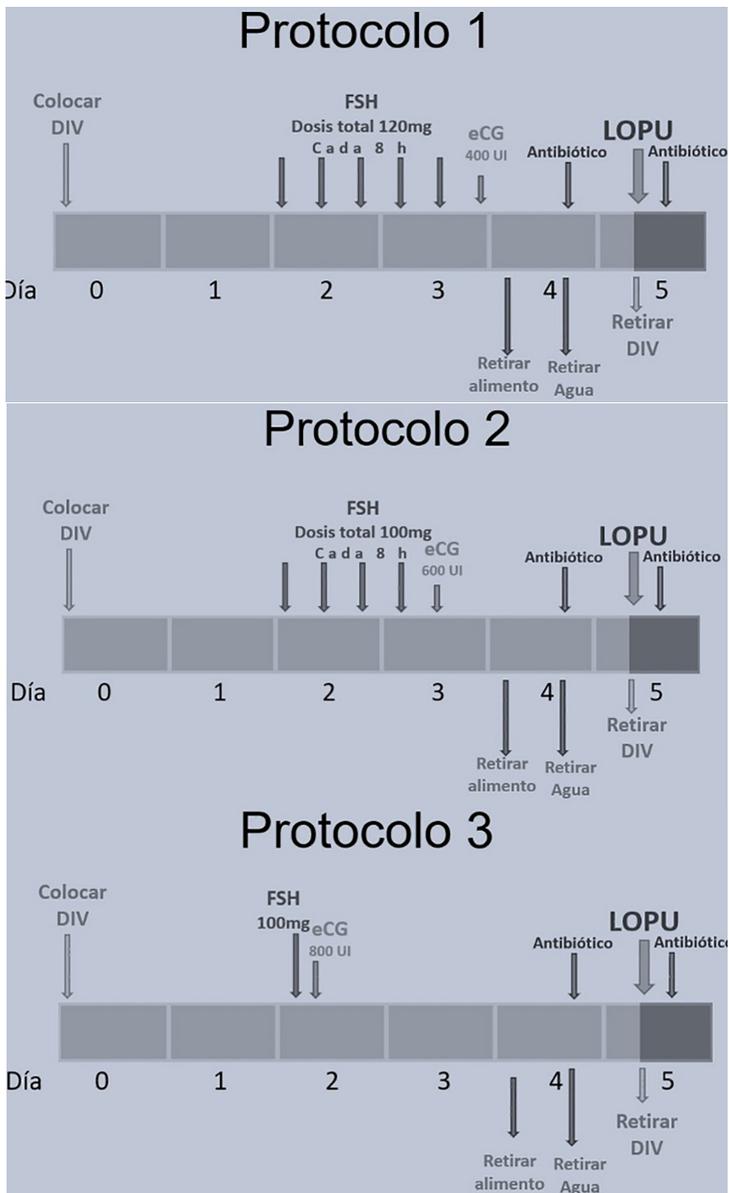


Figura 4. Protocolos utilizados para la estimulación ovárica en becerras.

Las donadoras de ovocitos se sometieron a LOPU a nivel de campo en las condiciones más asépticas posibles (Figura 5). Las donadoras se dietaron 24 horas y se les retiró el agua 12 horas previas a la LOPU.

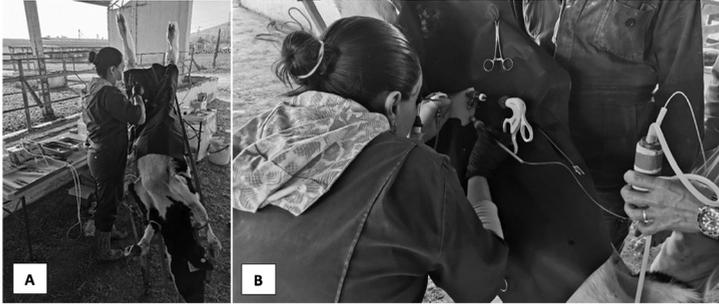


Figura 5. Aspiración de ovocitos por LOPU a partir de becerras de 3 meses a nivel de campo: A) Donadora de ovocitos colocada en una cama de inseminación artificial de ovinos para realizar la LOPU en campo; B) Área desinfectada y aislada para realizar la LOPU en campo.

Los ovocitos colectados (se mezclaron los ovocitos de las donadoras de cada grupo para bloquear el efecto de la hembra) fueron madurados *in vitro* (Protocolo 1 n=120; Protocolo 2 n=115; Protocolo 3 n=96) en un ambiente de 5% de CO<sub>2</sub> en aire, a 38.5°C y humedad de 100% por 24 horas. De los ovocitos aspirados, solo los ovocitos del protocolo 3 fueron ovocitos expandidos (Figura 6).

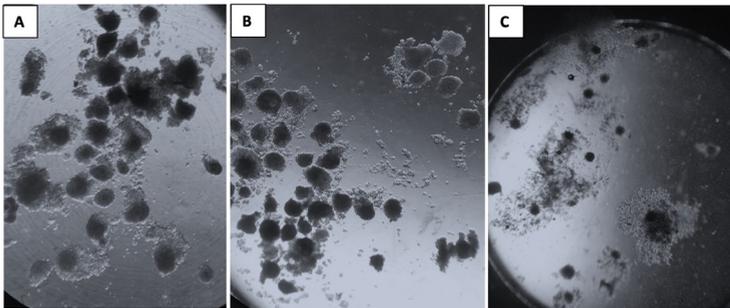


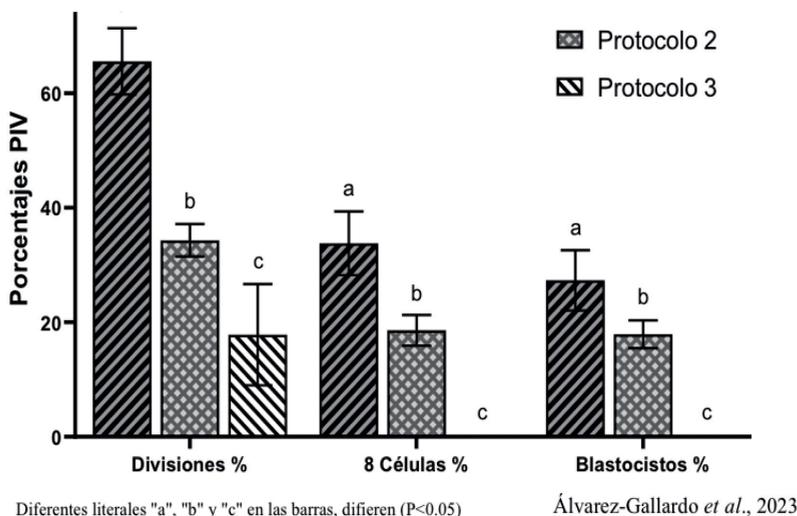
Figura 6. Ovocitos colectados por LOPU: A) Protocolo 1, B) Protocolo 2, C) Protocolo 3.

Para la fertilización *in vitro* se utilizó semen sexado de última generación con cromosoma “X” (SexedULTRA-4M) de  $4 \times 10^6$  espermatozoides/mL del mismo toro, de la raza Holstein probado para PIV. El semen fue separado mediante la técnica de Mini-Percoll y ajustado a una concentración de  $0.5 \times 10^6$  espermatozoides por mL. Para la FIV de los ovocitos madurados se utilizaron gotas de 80  $\mu\text{L}$  de medio de fertilización en una caja de Petri para cultivo embrionario en un ambiente de 5% de  $\text{CO}_2$  en aire, a  $38.5^\circ\text{C}$  y con humedad del 100% por 18 horas. Los ovocitos maduros fueron fertilizados en gotas independientes según el protocolo de estimulación utilizado.

Después de 18 horas de iniciada la FIV, los presuntos cigotos fueron desnudados y cultivados *in vitro* en pozos con 500  $\mu\text{L}$  de medio de cultivo en un ambiente de 5% de  $\text{CO}_2$ , 5% de  $\text{O}_2$ , 90% de  $\text{N}_2$  a  $38.5^\circ\text{C}$  y con humedad del 100%. A las 56 horas de iniciado el CIV se evaluaron los porcentajes de embriones divididos y de embriones de 8 células y permanecieron hasta el día 7 de CIV donde se evaluó el porcentaje de blastocistos obtenidos.

Los porcentajes de divisiones fueron  $63.33\% \pm 2.12$ ,  $38.03\% \pm 2.8$  y  $14.28\% \pm 1.4$  para los protocolos 1, 2 y 3 respectivamente. Para los embriones de 8 células los resultados para el protocolo 1 fueron del  $33.33\% \pm 1.4$ , para el protocolo 2 fue  $19.09\% \pm 0.7$  y para el protocolo 3 fue  $0\% \pm 0$ . El porcentaje de blastocistos al día 7 para el protocolo 1 fue del  $30\% \pm 2.4$ , para el protocolo 2 fue del  $19\% \pm 1.06$  y para el protocolo 3 fue del  $0\% \pm 0$ . Todos los grupos tuvieron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) para todas las variables analizadas (Gráfica 1).

Gráfica 1. Resumen de PIV en becerras Holstein de 3 meses de edad utilizando semen SexedULTRA-4M.



En el caso del protocolo 1 podemos observar cómo al dar una estimulación continua de 5 inyecciones de FSH es suficiente para que los ovocitos de hembras prepúberes adquieran la competencia y logren resultados similares a los de un animal adulto tanto en el porcentaje de divisiones como en la producción de blastocistos. Esto puede deberse a que si bien las hembras prepúberes presentan ondas foliculares que llegan hasta el folículo antral no tienen el estímulo de las gonadotropinas endógenas ya que no tienen activo el eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario (HHO), por lo que al ser estimulados con gonadotropinas exógenas pueden adquirir la competencia ovocitaria para generar blastocistos (Michalovich *et al.*, 2018; Currin *et al.*, 2021).

Con respecto al protocolo 2, se puede observar cómo el quitar una aplicación de FSH redujo prácticamente a la mitad la tasa de fertilización del protocolo 2 con respecto al protocolo 1, lo cual repercutió en la producción de blastocistos. Esto indica que los ovocitos de animales prepúberes requieren de una estimulación continua para adquirir competencia y poder llegar a formar un blastocisto (Currin *et al.*, 2017), pese a cambiar una aplicación de FSH por una dosis más alta de eCG.

El protocolo 3 presenta los peores resultados, aproximadamente la mitad del porcentaje de divisiones con respecto al protocolo 2 y prácticamente la cuarta parte de lo obtenido con el protocolo 1, lo cual repercute directamente en el porcentaje de embriones de 8 células y en el porcentaje blastocistos, que para ambos casos fue de 0%. Estos resultados pueden deberse a que cuando se colectaron los ovocitos, estos se veían expandidos, lo cual indica que esos ovocitos ya habían iniciado el proceso de maduración, tal vez con este protocolo se deba aspirar en el día 4 en vez del día 5.

En conclusión, bajo las condiciones de este trabajo, el protocolo 1 utilizando becerras de 3 meses tuvo resultados similares de PIV comparado con los que se obtienen con animales adultos. Se requiere de más investigación para desarrollar un protocolo de estimulación ovárica con menos aplicaciones, que lo haga más práctico, pero con eficiencia similar a la del protocolo 1.

## Producción de crías a partir de becerras de 3 meses de edad

Una vez evaluada la PIV de becerras prepúberes se procedió a evaluar la fertilidad de los embriones. Para ello se utilizaron como donadoras de ovocitos 3 becerras de 3 meses de edad de la raza Holstein del sistema semi-tecnificado/familiar en el estado de Jalisco. La estimulación ovárica se llevó a cabo de la siguiente manera: el día 0 se colocó un dispositivo intravaginal de 0.3 g de progesterona (DIV), el día 2 se inició con la aplicación de FSH cada 8 horas en 5 aplicaciones más 400 UI de eCG en la sexta aplicación (8 h después de la aplicación 5 de FSH) y en el día 5 se realizó la LOPU.

Los ovocitos colectados fueron madurados *in vitro* en el medio IVM en un ambiente de 5% de CO<sub>2</sub> en aire, por 24 horas.

Para la fertilización *in vitro* (FIV) se utilizó semen sexado hembra SexedULTRA-4M™ del mismo toro (Holstein) con eficiencia probada para la PIV. Los ovocitos maduros fueron fertilizados en gotas independientes según la donadora utilizada.

Después de 18 horas de iniciada la FIV, los presuntos cigotos fueron desnudados y cultivados *in vitro* (CIV) en un ambiente de 5% de CO<sub>2</sub>, 5% de

O<sub>2</sub>, 90% de N<sub>2</sub> a 38.5°C y con humedad del 100%. A las 56 horas de iniciado el CIV se evaluaron los porcentajes de embriones divididos y permanecieron hasta el día 7 de CIV donde se evaluó el porcentaje de blastocistos obtenidos.

Los embriones obtenidos (20) fueron transferidos en fresco de 20 receptoras (Holstein) de entre 2 y 4 partos, previamente sincronizadas, sin antecedentes de falla reproductiva y sin anomalías del tracto reproductor. Las receptoras fueron previamente sincronizadas con un DIV de 1.3 g de progesterona más 250 µg de gonadorelina en el día 0, el día 7 se retiró el DIV y se aplicaron 500 µg de cloprostenol sódico, en el día 9 se aplicaron 250 µg de gonadorelina y en el día 16 se hicieron las transferencias. Solo se transfirieron receptoras que presentaron celo y cuerpo lúteo con alta irrigación.

Se obtuvieron 18, 25 y 28 ovocitos viables de las donadoras 1, 2 y 3 respectivamente. Después de la FIV, los porcentajes de divisiones fueron de 67% para la donadora 1, 72% para la donadora 2 y 71% para la donadora 3. Al día 7 de cultivo in vitro, la producción de blastocistos fue de 22.2%, 32% y 28.5% para las donadoras 1, 2 y 3. Se obtuvieron 4 blastocistos de la donadora 1, 8 de la donadora 2 y 8 de la donadora 3. El diagnóstico de gestación se llevó a cabo a los 22 días de gestación con ultrasonografía Doppler color y se reconfirmó a los 40 días de gestación (Figura 7). Se diagnosticaron gestantes 10 de las 20 receptoras transferidas y nacieron 8 crías (todas hembras) de las cuales 1 murió. De la donadora 1 se destetó una becerro, de la donadora 2 se destetaron 4 becerros (Figura 8) y de la donadora 3 se destetaron 2 becerros. Estos resultados se resumen en la tabla 2.



Figura 7. Diagnóstico de gestación de receptoras.

Tabla 2. Resultados de PIV, TE, gestaciones, nacimientos y destetes obtenidos a partir de becerras									
Donadora	Ovocitos	Divisiones		Blastocitos		TE	Gestaciones 40 días	Nacidas	Destetadas
	n	n	%	n	%				
1	18	12	67	4	22.2	4	2	2	1
2	25	18	72	8	32	8	5	4	4
3	28	20	71	8	28.5	8	3	2	2



Figura 8. Donadora 2 con sus 4 hijas destetadas.

Bajo las condiciones de este trabajo, se obtuvieron crías del sexo deseado con porcentajes aceptables de destetes, con lo que podemos concluir que se pueden producir embriones y crías del sexo deseado de forma eficiente a partir de hembras prepúberes mediante LOPU-PIV en la raza Holstein.

## Conclusiones

La LOPU es una técnica que sin duda llegó para quedarse debido a que con esta tecnología se alarga la vida útil de las donadoras, permite el rescate genético con fines de conservación, aún en animales viejos, en animales prepúberes, su aplicación cada vez es utilizada en más especies, incluidas las especies silvestres. Todo indica que en los próximos años la LOPU se consolidará como una herramienta reproductiva eficaz como lo hicieron sus técnicas predecesoras (IA y MOET).

## Bibliografía

Álvarez-Gallardo, H., Velázquez-Roque, A., Martínez-Sandoval, J. R., Ochoa-Estrada, E., Arenas-Sánchez L. J, Villaseñor-González, F., Kjelland, M. E., & Romo-García, S. (2022). *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*, Villahermosa, Tabasco. Pag. 123-125.

Armstrong, D.T., Holm, P., Irvine, B., Petersen, B. A., Stubbings, R. B, McLean, D., Stevens, G., & Seamark, R. F. (1992). *Pregnancies and live birth from in vitro fertilization of calf oocytes collected by laparoscopic follicular aspiration*. *Theriogenology*, 38(4), 667-78.

Baldassarre, H. (2021). *Laparoscopic Ovum Pick-Up Followed by In Vitro Embryo Production and Transfer in Assisted Breeding Programs for Ruminants*. *Animals*, 11(1), 216.

Baldassarre, H., Currin, L., Michalovic, L., Bellefleur, A. M., Gutierrez, K., Mondadori, R. G., Glanzner, W. G., Schuermann, Y., Bohrer, R. C., Dicks, N., Lopez, R., Grand, F. X., Vigneault, C., Blondin, P., Gourdon, J., & Bordignon, V. (2018). *Interval of gonadotropin administration for in vitro embryo production from oocytes collected from Holstein calves between 2 and 6 months of age by repeated laparoscopy*. *Theriogenology*, 116, 64-70.

Baldassarre, H., Rao, K. M., Neveu, N., Brochu, E., Begin, I., Behboodi, E., & Hockley, D. K. (2007). *Laparoscopic ovum pick-up followed by in vitro embryo production for the reproductive rescue of aged goats of high genetic value*. *Reproduction, Fertility and Development*, 19(5), 612-6.

Currin, L., Baldassarre, H., & Bordignon, V. (2021). *In Vitro Production of Embryos from Prepubertal Holstein Cattle and Mediterranean Water Buffalo: Problems, Progress and Potential*. *Animals*, 11(8), 2275.

Currin, L., Michalovic, L., Bellefleur, A. M., Gutierrez, K., Glanzner, W., Schuermann, Y., Bohrer, R. C., Dicks, N., da Rosa, P. R., De Cesaro, M. P., Lopez, R., Grand, F. X., Vigneault, C., Blondin, P., Gourdon, J., Baldassarre, H., & Bordignon, V. (2017). *The effect of age and length of gonadotropin stimulation on the in vitro embryo development of Holstein calf oocytes*. *Theriogenology*, 104, 87-93.

Chastant-Maillard, S., Quinton, H., Lauffenburger, J., Cordonnier-Lefort, N., Richard, C., Marchal, J., Mormede, P., & Renard, J. P. (2003). *Consequences of transvaginal follicular puncture on well-being in cows*. *Reproduction*, 125(4), 555-63.

- Galli, C., Crotti, G., Notari, C., Turini, P., Duchi, R., & Lazzari, G. (2001). *Embryo production by ovum pick up from live donors*. *Theriogenology*, 55(6), 1341-57.
- Jorge-Neto, P. N., Alecho, R. L., Schilbach, P. C., & Baldassarre, H. (2018). *Laparoscopic ovum pick-up (LOPU): from animal production to conservation*. *Spermova*, 8(1), 61-67.
- Locatelli, Y., Vallet, J. C., Huyghe, F. P., Cognié, Y., Legendre, X., & Mermillod, P. (2006). *Laparoscopic ovum pick-up and in vitro production of sika deer embryos: effect of season and culture conditions*. *Theriogenology*, 66(5), 1334-42.
- Michalovic, L., Currin, L., Gutierrez, K., Bellefleur, A. M., Glanzner, W. G., Schuermann, Y., de Macedo, M. P., Bohrer, R. C., Dicks, N., Lopez, R., Taibi, M., Madogwe, E., St-Yves, A., Mondadori, R. G., Gourdon, J., Vigneault, C., Baldassarre, H., & Bordignon, V. (2018). *Granulosa cells of prepubertal cattle respond to gonadotropin signaling and upregulate genes that promote follicular growth and prevent cell apoptosis*. *Molecular Reproduction and Development*, 85(12), 909-920.
- Palma, G. A., Tortonese, D. J., & Sinowatz, F. (2001). *Developmental capacity in vitro of prepubertal oocytes*. *Anatomia Histologia Embryologia*, 30(5), 295-300.
- Petyim, S., Båge, R., Madej, A., & Larsson, B. (2007). *Ovum pick-up in dairy heifers: does it affect animal well-being?*. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(6), 623-32.
- Sousa, A. J. O., Gurgel, H. J., Coelho, P. S. A., Silva, C. R. G., Araújo, L. H. V., Nascimento, H. S. D., Rodrigues, I. D. S. R., Pantoja, L. C., Cardoso, T. D. S., Silva, M. D., Torres, A. C. C., Teixeira, P. P. M., & Miranda, M. D. S. (2022). *Surgical Description of Laparoscopic Ovum Pick-Up in Buffalo Calves*. *Animals*, 13(1), 102.
- Velázquez, R. A., Álvarez, G. H., Kjelland, M., Villaseñor, G. F., Ariza, G., & Romo S. (2019). *"In vitro embryo production using prepubertal calf oocytes with conventional semen and sexed semen ULTRA-4M"*. *Reproduction, Fertility and Development*, 32(1), 162.
- Vilá, V. V., Pérez, A. M. L., Perozo, P. E., Riera, N. M., & Rivera, L. (2007). *Vascularización arterial del ovario durante el ciclo estral en ovinos*. *Revista Científica*, 17(4), 341-348.

Viana, J. H. M. (2021). 2020 Statistics of *embryo production and transfer in domestic farm animals*. Embryo Technology Newsletter – IETS, 39 (4): 24-38.



## Capítulo 3

# Mamíferos en peligro de extinción: Un contexto global, una solución local

Laura Aleida Antaño Díaz

Mireya García Castro



## Introducción

Los hechos demuestran que nos encontramos viviendo la sexta extinción masiva. Si bien las extinciones son una parte normal y esperada del proceso evolutivo, las tasas actuales de disminución de las poblaciones y extinción de especies son lo suficientemente altas como para amenazar funciones ecológicas importantes (Barnosky *et al.*, 2010; Ceballos *et al.*, 2015). Actualmente, la tasa de extinción de especies se estima entre 1,000 y 10,000 veces más alta que las tasas de extinción natural (WWF, 2022).

Al 2024, de las 163,040 especies evaluadas por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) a nivel global, más de 45,300 especies están bajo amenaza de extinción, es decir, el 28% de las especies evaluadas. De éstas, el 26% de las especies de mamíferos evaluadas, se encuentra bajo amenaza de extinción (UICN, 2024). En México, la NOM-059-SEMARNAT-2010 enlista a las especies y subespecies de flora y fauna silvestres que se encuentran en alguna categoría de riesgo (SEMARNAT, 2010); incluye un total de 49 especies probablemente extintas en el medio silvestre, 48 de ellas son mamíferos. De acuerdo con dicha norma, en el país existen 2,581 especies en alguna categoría de riesgo de extinción, con 291 especies de mamíferos registrados (SEMARNAT, 2019).

Ante esta situación se han tomado diversas medidas para mitigar el impacto a través de acuerdos nacionales e internacionales. A nivel internacional, el primer tratado multilateral que abordó la biodiversidad como un asunto de importancia mundial fue el Convenio de la Diversidad Biológica (CDB) adoptado en la Cumbre para la Tierra en 1992, que demuestra la preocupación ante su deterioro y reconoce su importancia para la viabilidad de la vida en el planeta y el bienestar humano (CONABIO, 2021). Otro acuerdo concertado entre los gobiernos y firmado en Washington en 1973 es la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, por sus siglas en inglés; CITES, 2023), que tiene por finalidad velar que el comercio internacional de especímenes de animales y plantas silvestres no constituya una amenaza para su supervivencia. El Convenio sobre la Diversidad Biológica (CBD) firmado en Río de Janeiro Brasil en 1992 es considerado el principal instrumento internacional para el desarrollo sostenible pues promueve medidas para la conservación de la di-

versidad biológica a nivel de ecosistemas, especies y recursos genéticos. Finalmente, podemos destacar las diferentes iniciativas que aborda la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) destacando actualmente como autoridad mundial respecto al estado del mundo natural y las medidas necesarias para salvaguardarlo. A nivel nacional, México cuida y protege las especies prioritarias mediante la creación de Áreas Naturales Protegidas (ANP), de acuerdo al Art. 44 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA), las ANP son zonas de territorio nacional en la que los ambientes originales no han sido significativamente alterados por la actividad humana, o que sus ecosistemas y funciones integrales requieren ser preservadas y restauradas. La CONANP administra actualmente 225 ANP de carácter federal, con una cobertura de 93 millones 944 mil 064 hectáreas, a lo que se suman un millón 234 mil 036 hectáreas de las Áreas Destinadas Voluntariamente a la Conservación, para dar un gran total de 95 millones 178 mil 100 hectáreas (CONANP, 2024).

Estas iniciativas han sido adoptadas por países y en algunos casos a nivel estado. Sin embargo, estas iniciativas para que sean exitosas tienen que ser adecuadas a nivel local considerando las condiciones ambientales, económicas y sociales del lugar.

## Contexto de los Mamíferos en peligro de extinción en México

México ocupa el tercer lugar a nivel mundial en mamíferos con 564 especies (12% del total mundial), sólo detrás de Brasil (648 especies) e Indonesia (670 especies). Las 564 especies de mamíferos con las que cuenta nuestro país se encuentran agrupadas en 200 géneros, 46 familias y 13 órdenes (PROFEPA, 2020), contando con un 30% de especies endémicas (CONABIO, 2020), siendo los estados más ricos en biodiversidad Oaxaca, Veracruz y Chiapas. Sin embargo, a pesar de esta gran diversidad biológica, un gran número de especies y sus poblaciones se encuentran en categoría de riesgo.

Las especies en riesgo son aquéllas que sus poblaciones han ido disminuyendo debido a las actividades humanas como es la transformación de su hábitat, sobreexplotación, interacciones con especies invasoras, efectos de la contaminación, al punto que se considera necesario protegerlas (SEMAR-

NAT, 2010). De acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010) en México se utilizan cuatro categorías para las especies que se encuentran en riesgo, las cuales se mencionan a continuación:

- En peligro de extinción (52 especies de mamíferos en México). Especies cuyas áreas de distribución o tamaño de sus poblaciones han disminuido drásticamente poniendo en riesgo su viabilidad biológica en todo su hábitat natural, debido a factores tales como la destrucción o modificación drástica del hábitat, aprovechamiento no sustentable, enfermedades o depredación, entre otros.
- Probablemente extinta en el medio silvestre (9 especies de mamíferos en México). Es aquella especie nativa de México cuyos ejemplares en vida libre dentro del territorio nacional han desaparecido, hasta donde la documentación y los estudios realizados lo prueban, y de la cual se conoce la existencia de ejemplares vivos, en confinamiento o fuera del territorio mexicano.
- Amenazadas (115 especies de mamíferos en México). Aquellas especies que pueden llegar a desaparecer a corto o mediano plazo, si continúan los factores que inciden negativamente en su viabilidad, al ocasionar su deterioro o modificación de su hábitat o disminuir directamente el tamaño de sus poblaciones.
- Sujetas a protección especial (104 especies de mamíferos en México). Especies que pueden llegar a estar amenazadas, por factores que inciden negativamente en su viabilidad, por lo que se determina la necesidad de propiciar su recuperación y conservación o la recuperación y conservación de poblaciones de especies asociadas.

La actual pérdida acelerada de especies de fauna silvestre, es resultado directo de las actividades no sustentables del ser humano, entre otros factores, tales como: desaparición y fragmentación del hábitat, la cacería ilegal, el tráfico y comercio ilegal, la introducción de especies exóticas, la aparición de enfermedades emergentes y el cambio climático, que han afectado a varias especies y poblaciones de flora y fauna silvestre (Armella Villalpando y Yañez López, 2011; PNUMA, 2012; Uribe-Botero, 2015; Habibullah *et al.*, 2022;).

Para hacer frente a estas amenazas, en México, para determinar el grado de riesgo de extinción de las especies y poblaciones silvestres se ha utilizado el Método de Evaluación del Riesgo de Extinción de las Especies Silvestres en México (MER), plasmado en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010). Por otro lado, se han implementado programas de recuperación y conservación de especies, como el Programa de Conservación de Especies en Riesgo (PROCER) a cargo de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP; CONABIO, 2023).

El PROCER se enfoca únicamente a especies en riesgo de extinción en México, aunque considera también algunas listas rojas internacionales, dicho programa busca la recuperación de estas especies, así como de poblaciones de especies asociadas y del mismo hábitat, seleccionando especies “sombrija” para que las acciones planteadas permitan la recuperación de más especies, algunas de las cuales podrán estar en alguna categoría de riesgo (CONABIO, 2023).

Los Programas de Acción para la Conservación de Especies (PACE) son las estrategias estructuradas para cada una de las especies consideradas en el PROCER, teniendo como objetivo consolidar, promover e implementar acciones específicas y estrategias de la conservación de las poblaciones de especies prioritarias en México. Estas estrategias permiten obtener conocimiento actualizado sobre la situación de cada especie, acciones de protección del hábitat y las especies en acuerdo con los principales actores y lineamientos claros de manejo, lo que brinda una estrategia integral de conservación (CONANP, 2019; CONABIO, 2023).

Para mamíferos se cuenta con el PACE para: ballena azul (*Balaenoptera musculus*), ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*), berrendo (*Antilocapra americana*), bisonte (*Bison bison*), jaguar (*Panthera onca*), lobo fino de guadalupe (*Arctocephalus townsendi*), lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*), manatí (*Trichechus manatus manatus*), oso negro americano (*Ursus americanus*), pecarí de labios blancos (*Tayassu pecari*), pequeños felinos (*Leopardus pardalis*, *Leopardus wiedii* y *Puma yagouaroundi*), perritos llaneros (*Cynomys ludovicianus* y *Cynomys mexicanus*), mono araña (*Ateles geoffroyi*) y monos aulladores (*Alouatta palliata*, *Alouatta pigra*), rorcual común (*Balaenoptera physalus*), tapir centroamericano (*Tapirus bairdii*), tiburón ballena (*Rhincodon typus*), vaquita marina

(*Phocoena sinus*), venado bura de isla cedros (*Odocoileus hemionus cerrosensis*), zacatuche (*Romerolagus diazi*) (CONANP, 2019).

## ¿Por qué es necesaria una solución local?

Las especies dependen de la conservación de los ecosistemas para subsistir. Sin embargo, la pérdida del hábitat de muchas especies se ha desencadenado por los impactos humanos. Considerando esta relación, es evidente que el foco de atención debe ser la causa del impacto y este debe ser incorporado en la solución.

En este sentido, el ser humano ha sido el encargado de impactar y restaurar los ecosistemas. Sin embargo, el crecimiento acelerado de sus poblaciones incrementa los impactos a los ecosistemas haciendo cada vez menos efectivas las acciones globales de conservación.

Algunas de las acciones globales han sido la creación de Áreas Naturales Protegidas (ANP). Según el informe Planeta Protegido de UNEP-WCMC and IUCN (2021), a nivel mundial, el 42% de los más de 22 millones de km<sup>2</sup> de tierra protegida o conservada fueron agregados en la última década. Además, un tercio de las áreas clave de biodiversidad aún no se encuentran protegidas y menos del 8% de la tierra está protegida y conectada a la vez. En México, al 2024 se cuenta con 225 áreas naturales protegidas (ANP; CONANP, 2024).

En México, además de las ANP como esquema de conservación, también se puede mencionar a las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) como una alternativa de producción/conservación local (CONABIO, 2020). Este esquema ha permitido que las personas se apropien de su recurso y de esta manera lo valoren, creando el binomio: conservar para aprovechar y aprovechar para conservar.

Las UMA son un instrumento que tiene objetivos específicos de restauración, protección, mantenimiento, recuperación, reproducción, repoblación, reintroducción, investigación, rescate, resguardo, rehabilitación, exhibición, recreación, educación ambiental y/o aprovechamiento sustentable de la vida silvestre. Se conforman por predios o instalaciones registrados ante SEMARNAT que operan de conformidad con un plan de manejo aprobado y

representan una forma de generar ingresos para las comunidades, cooperativas ejidales o iniciativas privadas (SEMARNAT, 2023).

De acuerdo al tipo de manejo las UMA se dividen en las siguientes categorías: 1) Manejo en vida libre, se refiere al que se hace con ejemplares o poblaciones de especies que se desarrollan en condiciones naturales, sin imponer restricciones a sus movimientos, donde se pueden realizar actividades de conservación y aprovechamiento sustentable. 2) Manejo intensivo, es aquel que se realiza sobre ejemplares o poblaciones de especies silvestres en condiciones de cautiverio y tienen como fin la recuperación de especies o poblaciones para su posterior reintegración a la vida silvestre (CONABIO, 2012).

Al 30 de junio de 2023, el total histórico de UMA en el Sistema de Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre fue de 14,378 (11,365 de manejo en vida libre y 3,013 de manejo intensivo), con 38.943 millones de hectáreas, es decir 19.8% de la superficie del territorio nacional (SEMARNAT, 2023).

Esta alternativa, ha permitido involucrar al factor humano, al mismo tiempo que se conserva y los dueños de la tierra obtienen un beneficio económico. Si bien es cierto que aún falta afinar algunos detalles, este esquema ha permitido un manejo local, involucrando a los dueños del recurso y generando una contra propuesta de conservación local a cambio de un recurso económico.

## Conclusiones

Actualmente son muchos los esfuerzos por conservar y recuperar la fauna en riesgo de extinción. Específicamente los mamíferos por ser un grupo carismático han tenido mucho apoyo en cuanto a proyectos de índole nacional e internacional. Sin embargo, la solución tiene que considerar la causa del problema, es decir, es de suma importancia incorporar en los programas de conservación los factores de riesgo al mismo tiempo que los problemas humanos.

El esquema de UMA esboza ser parte de esa solución al incorporar un esquema local de aprovechamiento sustentable de los recursos naturales que genera un beneficio económico al usuario, mismo que fomenta la im-

portancia económica de conservar. De esta manera se pueden conservar los ecosistemas con su variedad de hábitats de mamíferos, así como de otras especies asociadas.

En este sentido, se debe fomentar y fortalecer el esquema de UMA para que siga siendo una alternativa de conservación local que pueda servir de conexión con ANP y crear corredores biológicos, al mismo tiempo que genera beneficios económicos entre la población local.

## Bibliografía

Armella-Villalpando, M.A. y Yañez-López M. de L. (2011). *Mamíferos Mexicanos en Peligro de Extinción*. Revista digital universitaria. Volumen 12 Número 1. UNAM.

Barnosky, A.D. y Lindsey E.L. (2010). *Timing of Quaternary megafaunal extinction in South America in relation to human arrival and climate change*. *Quaternary international* 217:10-29.

Ceballos, G., Ehrlich P.R., Barnosky A.D., García A., Pringle R.M. y Palmer T.M. (2015). *Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction*. *Science Advances* 1,e1400253.

CITES. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. (2023). ¿Qué es la CITES? Consultado el 28 julio de 2023. En: <https://cites.org/esp/disc/what.php#:~:text=Tiene%20por%20finalidad%20velar%20por,la%20supervivencia%20de%20las%20especies>

CONABIO. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2023). Especies Prioritarias. Biodiversidad mexicana. En: <https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/espPrioritaria>

\_\_\_\_\_. (2021). *Convenio de la Diversidad Biológica*. Consultado el 28 julio de 2023. En: <https://www.biodiversidad.gob.mx/planeta/internacional/cbd>

\_\_\_\_\_. (2020). *Especies endémicas*. Biodiversidad Mexicana En: <https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/endemicas/endemicas>

\_\_\_\_\_. (2012). *Proyecto de Evaluación de las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) (1997-2008). Resultados de la Fase I: Gestión y Administración*. Proyectos CONABIO: HV003, HV004, HV007, HV012 y HV019. México. En: <https://www.biodiversidad.gob.mx/media/1/planeta/cites/files/informe-conabio-proyecto-uma-fase-I.pdf>

CONANP. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. (2024). *Cumple Gobierno de México su compromiso de conservación al llegar a 225 Áreas Naturales Protegidas*. Gobierno de México. En: <https://www.gob.mx/conanp/prensa/cumple-gobierno-de-mexico-su-compromiso-de-conservacion-al-llegar-a-225-areas-naturales-protégidas-355055#:~:text=Es%20importante%20mencionar%20que%20el,principal%20protector%20de%20tortugas%20marinas>

\_\_\_(2019). Programas de Acción para la Conservación de Especies (PACE). En: <https://www.gob.mx/conanp/acciones-y-programas/programas-de-accion-para-la-conservacion-de-especies-pace-123484>

Habibullah, M. S., Din, B. H., Tan, S. H., y Zahid, H. (2022). *Impact of climate change on biodiversity loss: global evidence*. Environmental science and pollution research international, 29(1), 1073–1086. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15702-8>NOM-059-SEMARNAT-2010

PNUMA. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2012). *Perspectivas del medio ambiente mundial (GEO5)*. Colombia.

PROFEPA. Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. (2020). *Mamíferos en México (Segunda parte)*. Consultado el 28 de julio de 2023. En: [https://www.gob.mx/profepa/articulos/mamiferos-en-mexico-segunda-parte#:~:text=Las%20564%20se%20encuentran%20agrupadas,13%25%20de%20la%20diversidad%20mundial.&text=En%20Mam%3%ADferos%20en%20M%3%A9xico%20\(Primera,-marinos%20y%20el%20%C3%B3rden%20Chiroptera](https://www.gob.mx/profepa/articulos/mamiferos-en-mexico-segunda-parte#:~:text=Las%20564%20se%20encuentran%20agrupadas,13%25%20de%20la%20diversidad%20mundial.&text=En%20Mam%3%ADferos%20en%20M%3%A9xico%20(Primera,-marinos%20y%20el%20%C3%B3rden%20Chiroptera)

SEMARNAT. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2023). 5 Informe de Labores. Medio Ambiente En: [https://dsiappsdev.semarnat.gob.mx/datos/portal/transparencia/2023/Medio\\_Ambiente\\_Quinto\\_Informe\\_de%20Labores.pdf](https://dsiappsdev.semarnat.gob.mx/datos/portal/transparencia/2023/Medio_Ambiente_Quinto_Informe_de%20Labores.pdf)

\_\_\_ (2010). *NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo*. Diario Oficial. México.

\_\_\_ (2019). *Informe de la Situación del Medio Ambiente en México*, edición 2018. Semarnat. México.

UICN. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. (2024). *La Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza*. En: <https://www.iucnredlist.org/es>

UNEP-WCMC and IUCN. *Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente Centro de Monitoreo de la Conservación del Ambiente y Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza*. (2021). Protected Planet Report 2020.

UNEP-WGMC and IUCN: Cambridge UK; Gland, Switzerland. En: <<https://liverreport.protectedplanet.net/>>

Uribe-Botero, E. (2015). El cambio climático y sus efectos en la biodiversidad en América Latina. Estudios del cambio climático en América Latina. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). Unión Europea.

WWF. Fondo Mundial para la Naturaleza. (2022). ¿Qué es la sexta extinción masiva y qué podemos hacer al respecto? En: <https://www.worldwildlife.org/descubre-wwf/historias/que-es-la-sexta-extincion-masiva-y-que-podemos-hacer-al-respecto>

## Capítulo 4

Desde las tinieblas: la historia  
de la musaraña del Volcán  
San Martín Tuxtla  
(*Soricidae, Cryptotis nelsoni*)

Lázaro Guevara



## Introducción

Las musarañas (*Eulipotyphla*, *Soricidae*) se caracterizan por su tamaño relativamente pequeño, ojos diminutos, hocico largo y pelaje denso. Son depredadoras voraces de escarabajos, arañas, lombrices de tierra y larvas de insectos, jugando un papel esencial en la regulación de las poblaciones de sus presas, especialmente en la superficie del suelo y bajo tierra (Goodman and Huttenner, 2004). La familia *Soricidae* se extiende por todo el mundo, siendo México un centro de diversificación de musarañas durante el Cuaternario (Choate, 1970; Dubey et al., 2007). Aquí habita cerca del 9% de la diversidad mundial de musarañas, con más de 40 especies descritas a la fecha, repartidas en los géneros *Cryptotis*, *Megasorex*, *Notiosorex* y *Sorex* (Guevara et al., 2015).

A pesar de su gran diversidad y amplia distribución en el país, las musarañas han sido un grupo poco estudiado debido, principalmente, a que son difíciles de observar en ambientes naturales y de coleccionar con los métodos tradicionales (Guevara y Cervantes, 2017; Woodman et al., 2012). Esto se ve reflejado en muchas especies que solo cuentan con datos escasos sobre su distribución y poseen descripciones morfológicas breves. La escasez de ejemplares de museo, localidades de presencia y de información sobre su historia natural, complican el avance en su conocimiento y conservación (Guevara et al., 2015).

Ante esta situación, a comienzos de este siglo XXI, el personal académico y estudiantes de la Colección Nacional de Mamíferos (CNMA), del Instituto de Biología de la UNAM, decidimos emprender el estudio formal de las musarañas en México. El inicio tuvo que ser en el campo, para ir en busca de ellas y constituir una colección de referencia sobre las especies que habitan en México, permitiendo conocer sus características morfológicas, genéticas y ecológicas. En aquel entonces notamos que existía una especie de la cual no se conocía prácticamente nada y que llevaba más de 100 años sin ser registrada: la musaraña de Los Tuxtlas o musaraña de Nelson, *Cryptotis nelsoni* (Merriam, 1895). Lo único que se sabía era que había sido colectada en 1894 y que al parecer solo habitaba en la Sierra de Los Tuxtlas (= Los Tuxtlas), cerca de la costa de Veracruz. Era noviembre de 2003 cuando inició la aventura de sacar de las tinieblas a este pequeño mamífero, uno de los menos conocidos del país, y partiendo con una pregunta muy simple: ¿aún existe esta especie?.

Hoy, 20 años después y tras muchas aventuras, *Cryptotis nelsoni* es una de las musarañas mejor conocidas en todo el Neotrópico.

En este capítulo deseo resumir lo que hemos desarrollado a lo largo de dos décadas en torno a la musaraña *Cryptotis nelsoni* y de qué manera nuestro trabajo en campo y colecciones científicas puede aportar a la conservación de la especie. También, intento destacar lo que hace falta para fortalecer los esfuerzos de conservación y cuál podría ser el futuro de esta especie endémica de Los Tuxtlas, una región única en nuestro país.

## El descubrimiento y redescubrimiento de *Cryptotis nelsoni*

Hace más de un siglo, los estadounidenses Edward W. Nelson y Edward A. Goldman pasaron 14 años (1892-1906) viajando por gran parte de México en una de las expediciones biológicas más importantes jamás emprendidas por dos naturalistas. Como parte del Servicio Biológico de Pesca y Vida Silvestre de EE. UU., ambos recibieron las órdenes de Clinton H. Merriam, jefe de la División de Ornitología y Mastozoología del Departamento de Agricultura de EE. UU., para realizar un estudio de campo que permitiera documentar la biota y características climáticas del país (López-Medellín y Medellín, 2016). Este trabajo de campo de muy largo plazo fue una piedra angular en el desarrollo de la mastozoología mexicana. Ambos naturalistas recorrieron todo el país y colectaron cerca de 17,400 ejemplares de mamíferos, muchos de ellos fueron especies nuevas para la ciencia, como la musaraña de Los Tuxtlas (Guevara, 2021). Nelson y Goldman visitaron la región de Los Tuxtlas en 1894, después de un viaje extenuante que inició en la zona de las altas montañas de Veracruz y continuó hacia la ribera del río Papaloapan (Goldman, 1951). En aquél entonces, el paisaje en Los Tuxtlas era diferente al actual, en el que los potreros no eran tan dominantes en las zonas bajas y la vegetación natural era más extensa y continua. El 11 de mayo de 1894, Edward W. Nelson escribió en su diario de campo:

*“El 6 de mayo regresamos a San Andrés Tuxtla. Allí llamé nuevamente al jefe político y me sorprendió saber que, en virtud de haber expresado mi deseo de ir a la cumbre del Volcán de Tuxtla, había ordenado que salieran todas las personas que vivían cerca del volcán y algunas de*

alrededor de San Andrés al número de casi 70 y ahora estaban ocupados en abrir un camino a través del bosque hasta la cumbre. Estando esto en marcha para mi beneficio, no me quedó más que esperar hasta el día 10 en que el camino se dio por terminado y me preparé para el viaje.”

Nelson y Goldman acamparon durante algunos días en la zona alta del Volcán San Martín Tuxtla. Entre sus muestras de aves y mamíferos estaban 11 musarañas, las cuales fueron preservadas y enviadas al Instituto Smithsonian en Washington, D.C. (8), Museo Británico en Londres (2), y Museo de Zoología Comparada en Cambridge (1) (Choate, 1970). Un año después, Clinton H. Merriam examinó estos especímenes y los describió como una especie nueva, *Blarina nelsoni*, la cual fue posteriormente transferida al género *Cryptotis* (Merriam, 1895; Miller, 1912). La localidad tipo quedó establecida como “Volcán Tuxtla, 4,800 pies, Veracruz”. El holotipo elegido fue una hembra adulta obtenida el 13 de mayo de 1894, con piel y cráneo preparados para ser alojados en el Museo Nacional de Historia Natural, Smithsonian (Figura 1; USNM 65437) (Merriam, 1895). Transcurrió más de un siglo sin tener más noticias de *Cryptotis nelsoni*.



Figura 1. Ejemplar tipo de la musaraña de Los Tuxtlas, *Cryptotis nelsoni*.  
Fotografía Lázaro Guevara.

En noviembre de 2003, como parte de mi tesis de licenciatura de la Universidad Veracruzana y en estrecha colaboración con el curador de la CNMA, emprendimos la expedición en busca de esta especie, con la ayuda invaluable de dos guías locales. El recorrido fue muy similar al que habían seguido Nelson y Goldman a finales del siglo XIX, partiendo de San Andrés Tuxtla con rumbo al norte para llegar hasta la cima del Volcán San Martín Tuxtla (Cuadro 1). Sin embargo, en esta ocasión no fue necesario solicitar ayuda de las comunidades para abrir el camino, ya que en la actualidad existen caminos que conectan a los potreros que van desde las orillas de San Andrés hasta las faldas del volcán (Figura 2). Llegamos a la cima del volcán a 1,750 m de elevación, en donde pudimos constatar que su cráter se encuentra completamente cubierto de vegetación, a pesar de ser un volcán activo (Cuadro 1). Descendimos hacia la cara sur del volcán para establecer el campamento a unos 1,500 m de elevación e iniciamos la colecta científica de mamíferos con previa autorización de la SEMARNAT y la CONANP. Para ello, utilizamos trampas de caída o también conocidas como pitfall, que consisten en botes de plástico de 1 lt de capacidad enterrados con la boca al ras del suelo y cerca de troncos o árboles caídos. Bastó una noche para corroborar la presencia de *Cryptotis nelsoni* y darnos cuenta de que parecía ser una especie muy común en la zona. A este respecto, Nelson ya le había comentado a Merriam la relativa abundancia de *C. nelsoni* en el volcán; Merriam escribió:

*“El Sr. Nelson afirma que es común en el bosque de la montaña y se extiende hasta la cumbre extrema a una altitud de 5,400 pies. Como la mayoría de las otras especies, hace senderos o caminos al abrigo de raíces y troncos (Merriam, 1895)”.*

El redescubrimiento de la musaraña de Los Tuxtlas, 109 años después de su primer registro, podría ser considerado un ejemplo de “efecto Lázaro” para la biología de la conservación, en donde especies aparentemente extintas son posteriormente redescubiertas (Cervantes y Guevara, 2010; Roberts et al., 2023). Su redescubrimiento fue tan solo el primer paso para empezar a vislumbrar su historia evolutiva y estado de conservación.

**Cuadro 1.**

El volcán San Martín Tuxtla está activo. Su última erupción ocurrió en 1793. Eran las 16:00 h del 4 de marzo de aquel año cuando empezó la actividad que alertó e incluso atemorizó a los pobladores de la región de Los Tuxtlas. La lava empezó a emerger junto con rocas, centellas y una inmensa nube de cenizas que cubrió al poblado de San Andrés Tuxtla. El evento fue tan dramático e inusual que la noticia llegó pronto a varias partes del territorio e incluso al Viejo Mundo. El virrey de la entonces Nueva España encomendó al naturalista José Mariano Mociño, con ayuda del ilustrador Anastasio Echeverría, describir el evento eruptivo. Fueron varios meses de actividad volcánica intensa. El 23 de mayo llegaron restos volcánicos hasta las ciudades de Oaxaca, Orizaba, Córdoba y algunos poblados de Tabasco. El 28 de junio, a las 6:00 h, ocurrió la tercera y mayor erupción, acompañada de fuertes caídas de ceniza, truenos y creando paisajes apocalípticos con árboles quemados durante 3 días. Este evento dañó severamente los caminos y dejó a la región prácticamente inaccesible por la capa de ceniza (Moziño, 1870). Es posible que el material expulsado del cráter haya alcanzado altitudes de hasta 10 km y llegado hasta 300 km de distancia (Espindola et al., 2010). ¿Cuál pudo haber sido la consecuencia de esta erupción sobre la biodiversidad del volcán? En la actualidad, el volcán no muestra signos de mayor actividad y los dos conos están completamente cubiertos por una densa capa de vegetación (Siemens, 2009).



Figura 2. Vista panorámica del volcán San Martín Tuxtla, Veracruz (al fondo) y la zona de potreros en las tierras bajas. Fotografía Lázaro Guevara, septiembre de 2015.

## Un linaje evolutivo único

Desde su descripción en 1895 y durante prácticamente todo el siglo XX, el estado taxonómico de la musaraña de Los Tuxtlas fue incierto (Guevara y Cervantes, 2022). Por un largo tiempo fue considerada una subespecie de *C. mexicanus*, una especie común y de amplia distribución en los bosques húmedos de montaña al este de la Faja Volcánica Transmexicana, al norte de la Sierra Madre del Sur y en Los Altos de Chiapas (Choate, 1970). Los estudios taxonómicos más recientes, aunado a su aislamiento geográfico en la Sierra de Los Tuxtlas, han dejado claro su nivel específico (Woodman y Timm, 1999; Guevara y Cervantes, 2022).

Los análisis filogenéticos y filogeográficos han permitido determinar que *Cryptotis nelsoni* es parte de un clado que también incluye a las especies *C. mexicanus*, *C. obscurus*, *C. phillipsii* y *C. magnus* (Guevara y Cervantes, 2014; He et al., 2015). Este grupo de especies es endémico de México y se distribuye en gran parte de la Zona de Transición Mexicana, la región donde se superponen las biotas Neártica y Neotropical. Es notable la estrecha asociación que todas estas especies tienen con los bosques húmedos de montaña, en

particular el bosque de niebla (Guevara, 2020). A nivel genético, presenta una distancia de cerca de 6% en genes mitocondriales con respecto a sus especies más relacionadas, *C. mexicanus* y *C. obscurus* (Guevara y Cervantes, 2014; 2022). A nivel morfológico, es fácilmente distinguible por una combinación de características, como su talla grande, pelaje oscuro, hocico relativamente ancho y extremidades delanteras robustas (Guevara y Cervantes, 2022). Es posible que sus características morfológicas sean un reflejo de un estilo de vida semifosorial, permitiéndole forrajear debajo de la tierra en busca de anélidos o invertebrados de mayor talla (Guevara y Cervantes, en prensa). Un individuo observado en semicautiverio en septiembre de 2015 mostró un comportamiento semifosorial para esconder comida y encontrar refugio (Figura 3).

Sus características morfológicas y moleculares, distintivas y únicas, han sido el resultado de la especiación alopátrica y el aislamiento prolongado en Los Tuxtlas (Guevara, 2020). La historia evolutiva de *Cryptotis nelsoni* es tan particular, que es el único mamífero endémico de Los Tuxtlas (Guevara y Cervantes, 2022).



Figura 3. Musaraña de Los Tuxtlas, *Cryptotis nelsoni*.  
Fotografía Lázaro Guevara, septiembre de 2015.

## Su hábitat y distribución

La musaraña de Nelson solo habita dentro de los límites de la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas, Veracruz, México, un campo volcánico aislado en la planicie costera del Golfo de México. Los Tuxtlas tienen la apariencia de una isla rodeada de ecosistemas húmedos bajos que mantienen aisladas a diversas poblaciones de mamíferos silvestres (Hall y Dalquest, 1963; Siemens, 2009). El trabajo de campo que permitió el descubrimiento (y redescubrimiento) de *Cryptotis nelsoni* sugiere que podría estar restringida a los parches del bosque de niebla del Volcán San Martín Tuxtla, en el extremo occidental de Los Tuxtlas. Sin embargo, la distribución potencial de esta musaraña también incluye las zonas altas del Volcán Santa Marta y Volcán Santa Marta y Volcán San Martín Pajapan, otras zonas bien conservadas y con elevaciones altas (Figura 4) (Guevara y Sánchez-Cordero, 2018).

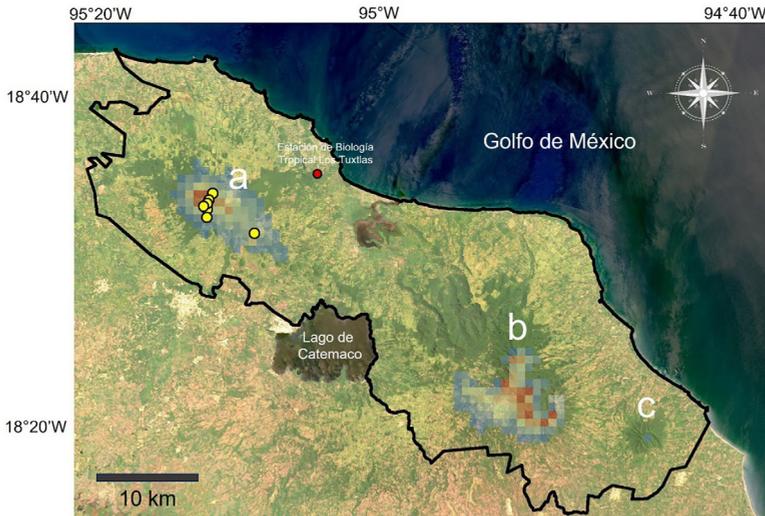


Figura 3. Distribución potencial de la musaraña de Los Tuxtlas, *Cryptotis nelsoni*, en la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas (límite en negro): (a) volcán San Martín Tuxtla, (b) volcán Santa Marta, y (c) volcán San Martín Pajapan. Los píxeles rojos indican mayor idoneidad climática y los puntos amarillos los registros confirmados de la especie (Guevara y Sánchez-Cordero 2018).

En nuestro afán por determinar la distribución actual de la especie, un paso crítico para evaluar su estado de conservación, hemos realizado trabajo de campo adicional en las tres zonas montañosas de Los Tuxtlas: el Volcán San Martín Tuxtla, el Volcán Santa Marta y el Volcán San Martín Pajapan (Figura 4) (Guevara, 2018). Al Volcán San Martín Tuxtla regresamos en febrero de 2004 y septiembre de 2015 (100 noches-trampa en cada periodo), logrando obtener registros nuevos en las caras norte y este del volcán, además de un registro notable a una elevación más baja y más alejado del resto (Guevara y Sánchez-Cordero, 2018). En el Volcán Santa Marta realizamos trabajo de campo en una pequeña región durante marzo de 2018, sin tener éxito de captura (300 noches-trampa). Cabe mencionar que otro estudio sobre la diversidad de mamíferos Volcán Santa Marta tampoco registró la presencia de esta musaraña, aunque ese trabajo de campo se concentró principalmente en elevaciones bajas y medias (Gonzalez Christen, 2008). Finalmente, en el Volcán San Martín Pajapan realizamos una expedición en agosto de 2012 sin tener éxito en la colecta científica (300 noches-trampa).



Figura 4. Expediciones en busca de la musaraña de Los Tuxtlas, *Cryptotis nelsoni*, en el (a) volcán San Martín Tuxtla, (b) volcán Santa Marta, y (c) volcán San Martín Pajapan. Fotografía Lázaro Guevara.

Un aspecto en común en todas nuestras expediciones ha sido la lluvia, las cuales fueron de moderadas a intensas, sobre todo al atardecer y durante algunas noches. Ciertamente aún no contamos con datos fisiológicos directos de esta especie; sin embargo, con base en modelos de nicho ecológico, se ha inferido que la temperatura máxima del mes más cálido y la precipitación del mes más lluvioso podrían ser determinantes para limitar su distribución geográfica (Guevara, 2020). Hasta ahora, los registros conocidos provienen de lugares donde la temperatura máxima del mes más cálido oscila entre 26.6 °C y 28.9 °C, y la precipitación durante el mes más lluvioso va de 450 a 502 mm (Guevara y Cervantes, 2022).

Con lo anterior, la distribución conocida de *C. nelsoni* cubre un área de tan solo 10 km<sup>2</sup> y está fragmentada por un camino que conecta pequeños pueblos dentro del Área Protegida (Cervantes y Guevara, 2010; Guevara y Sánchez-Cordero, 2018). Todos los registros caen dentro del bosque de niebla, uno de los ecosistemas más amenazados a nivel mundial y con una escasa representación en Los Tuxtlas (Rojas-Soto et al., 2012). Los modelos de nicho ecológico y estimaciones de distribución potencial sugieren que, durante las fases glaciales del Cuaternario, la distribución de esta especie fue mucho más amplia e incluyó elevaciones bajas en todo Los Tuxtlas. Esto podría haber promovido expansiones de distribución durante las glaciaciones y reducciones o fragmentación durante los interglaciales, como el presente (Guevara, 2020). Si esta musaraña habita otras zonas montañosas de Los Tuxtlas es incierto, pero nuestro equipo de académicos y estudiantes de la CNMA aún continúa con exploraciones en los tres volcanes para determinar su distribución actual (Guevara, 2018).

## Estado de conservación actual y retos ante un futuro incierto

A la fecha, *Cryptotis nelsoni* continúa catalogada “en peligro crítico” por la IUCN y “bajo protección especial” por el gobierno mexicano (Guevara et al., 2015; Matson et al., 2018). Su distribución cae completamente dentro de la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas, la cual forma parte del Programa El Hombre y la Biosfera (MAB) y que busca el uso racional y la conservación de los recursos naturales para mejorar la relación entre las personas y su entorno

(Guevara y Laborde, 2012). Los registros confirmados de esta especie se encuentran dentro de una de las tres zonas núcleo de la Reserva, donde las actividades están estrictamente controladas (Guevara y Sánchez-Cordero, 2018). Históricamente, el uso de la tierra en Los Tuxtlas ha incluido la tala, el pastoreo de ganado, los incendios provocados y cultivos (e.g., chiles, maíz, cítricos, tabaco y caña de azúcar). La degradación del paisaje de Los Tuxtlas, principalmente en las tierras bajas y medias, está empobreciendo las comunidades de mamíferos, en donde ya no existen o es difícil encontrar individuos de mamíferos de talla mediana y grande que históricamente habían sido registrados en la región, tal como el jaguar (*Panthera onca*), el puma (*Puma concolor*), el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) o el pecarí de labios blancos (*Tayassu pecari*) (Ríos-Solís et al., 2022). Afortunadamente, la deforestación disminuyó y se revirtió después de que se decretó la Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas en 1998 (VonThaden et al., 2018); sin embargo, es posible que haya sido demasiado tarde para especies de talla mayor que suelen sufrir los efectos de la perturbación del hábitat más rápidamente debido a requerir mayores espacios para sus actividades.

El ganado adaptado al pastoreo en libertad también es una amenaza para la biodiversidad que habita en las áreas núcleo de Los Tuxtlas (Guevara y Laborde, 2012; Siemens, 2009). A finales del siglo XIX, Edward W. Nelson destacó que mucho ganado salvaje corría por el bosque en la cara norte del Volcán San Martín que daba al mar y que en verano se le podía encontrar pastando en el cráter (mencionado en notas de campo de Edward W. Nelson; [https://siarchives.si.edu/collections/siris\\_arc\\_361479](https://siarchives.si.edu/collections/siris_arc_361479)). Por lo tanto, las medidas de control del pastoreo y el mantenimiento de los pastos con cobertura arbórea en las zonas de amortiguamiento deben monitorearse permanentemente (Guevara y Laborde, 2012).

Nuestro trabajo de campo ha permitido constatar la protección de los bosques que se encuentran en las zonas medias y altas de Los Tuxtlas (> 1,000 m elevación), en donde la actividad humana es muy baja y los senderos lucen poco transitados. Si la protección de los bosques en la montaña alta se mantiene e intensifica en la Reserva de la Biosfera, es posible anticipar un futuro prometedor para las poblaciones de mamíferos que prefieren las condiciones ambientales existentes a mayor elevación. Sin embargo, es paradójico que esta misma situación puede ser de peligro extremo. Debido a

su preferencia por los climas templados y húmedos y su estrecha asociación con los bosques de niebla, *Cryptotis nelsoni* podría considerarse ahora una especie en peligro debido al cambio climático (Cervantes y Guevara, 2010). Las condiciones climáticas donde se ha registrado *C. nelsoni* podrían dejar de existir para el año 2050 si se cumplen algunos escenarios de cambio climático antropogénico (Guevara y Cervantes, 2022). Tanto las condiciones más cálidas y los patrones de precipitación cada vez más irregulares podrían ejercer una presión selectiva sobre esta especie, obligándola a adaptarse al cambio climático o llevando a sus poblaciones a un punto crítico en las próximas décadas. A nivel global, uno de los mayores desafíos que enfrenta la humanidad es mitigar el avance de este cambio climático, el cual es especialmente peligroso para las especies altamente asociadas al bosque de niebla en el Neotrópico (Rojas-Soto *et al.*, 2012).

## Acciones pendientes y apoyo requerido

La extensión y los límites altitudinales (inferior y superior) de la distribución actual de *Cryptotis nelsoni* aún no se conocen con precisión, algo que es fundamental para determinar sus tolerancias ambientales y su posible respuesta al cambio climático. Para maximizar la oportunidad de encontrar nuevas poblaciones o registros, es deseable utilizar técnicas de modelado de nicho ecológico o idoneidad ambiental para identificar aquellas regiones prioritarias para emprender expediciones y monitoreos (e.g., Guevara y Sánchez-Cordero, 2018). Es importante incrementar el uso de métodos de muestreo dirigidos a especies pequeñas como las musarañas para aumentar la probabilidad en el éxito de captura, tal como el uso de trampas de caída (*pitfall*) y trampas Sherman para la captura de musarañas vivas. La dificultad para acceder a las zonas más altas del Volcán Santa Marta y del Volcán San Martín Pajapan, y algunas partes del Volcán San Martín Tuxtla, hace que se requiera financiamiento suficiente para realizar exploraciones de varios días o semanas, además de contar con apoyo de estudiantes y colegas con experiencia en el trabajo campo en zonas remotas.

Por otro lado, no existen análisis genéticos a escala fina ni información sobre los movimientos de los individuos en el paisaje, lo que dificulta conocer el estado genético de sus poblaciones y la capacidad de dispersión

de la especie ante cambios ambientales inminentes. Nuestro trabajo de campo ha permitido el acopio de muestras genéticas que permanecen congeladas en la CNMA (Cervantes y Guevara, 2010; Guevara y Sánchez-Cordero, 2018), por lo que existe el potencial de realizar estudios que lleven a comprender de mejor manera el efecto que tiene la estructura del paisaje sobre la variación y diversidad genética de este mamífero pequeño (e.g., Colunga-Salas *et al.*, 2023). También hemos detectado los sitios en donde habita la especie y perfeccionado el método para colectar ejemplares vivos, siendo ahora posible emprender estudios de captura y recaptura para conocer la dinámica de los individuos a través del paisaje (e.g., Marines-Macías *et al.*, 2018).

Finalmente, a pesar de ser el único mamífero endémico de Los Tuxtlas y con el mayor nivel de amenaza, el conocimiento que las y los pobladores de la región tienen sobre esta especie es prácticamente nulo. Crear conciencia sobre la existencia e importancia de *C. nelsoni* en las comunidades cercanas al Volcán San Martín Tuxtla es vital para aumentar la efectividad de cualquier medida de conservación. La generación de material audiovisual y la interacción con las personas que habitan los alrededores de la distribución conocida permitirá acercar a las comunidades locales el conocimiento sobre esta especie y su hábitat en la región. A escala regional, es necesario construir esfuerzos de conservación que involucren a diferentes actores sociales y que reduzcan el conflicto entre la población local y las decisiones de las autoridades (Duran y Lazos, 2008). El carácter evolutivo único de *Cryptotis nelsoni*, que la ha llevado a ser el único mamífero endémico de Los Tuxtlas, tiene el potencial de ubicarla como una especie emblemática que podría fungir como un ícono o símbolo de la región.

## Conclusiones

Hace apenas 20 años, la musaraña de Los Tuxtlas (*Cryptotis nelsoni*) era uno de los mamíferos menos conocidos en México. Tras dos décadas de trabajo de campo, consulta de colecciones científicas, análisis genéticos y biogeográficos, ha sido posible sacar a esta especie de las tinieblas y colocarla entre las especies de musarañas más estudiadas y conocidas de todo el Neotrópico. Sin embargo, a pesar de los notables avances en el conocimiento de su taxonomía e historia evolutiva promovidos por la Colección Nacional de Mamíferos de la UNAM y con el apoyo de instancias gubernamentales y la población local, aún existe un conocimiento insuficiente para determinar con mayor precisión su estado de conservación. Existen diversas tareas pendientes que requieren la participación de diversos actores y actrices. Urge, por ejemplo, (1) determinar su distribución actual que permita establecer sus requerimientos ambientales, (2) comprender el estado genético de sus poblaciones, e (3) inferir la capacidad de dispersión de los individuos a través del paisaje. La características morfológicas, genéticas y ecológicas únicas de esta musaraña deben ser un incentivo para promover el diseño de estrategias de conservación dirigidas a esta especie y su entorno. *Cryptotis nelsoni* es una de las razones por las cuales Los Tuxtlas es una región mágica.

## Agradecimientos

Agradezco a las y los organizadores del 2do. Simposio “Mamíferos de México en riesgo y estrategias de recuperación: perspectiva internacional” por la invitación a participar en este noble esfuerzo. Quisiera agradecer a todas y todos quienes han contribuido, de alguna forma, a mejorar nuestro conocimiento sobre la musaraña de Los Tuxtlas: Fernando A. Cervantes, Christian Absalón, Ana Arango, Omar Villegas, Fernando Álvarez, Salvador Ramírez-Vite, Nahú Ramírez-Vite, Stephanie Ortega-García, Iván Vera, Stephanye Mata-González, Fernando Ponce, Braulio Málaga y a “Goyo”. Agradezco a la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO; proyecto JM044) por aportar financiamiento para el trabajo de campo, y a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) por los permisos necesarios y el apoyo logístico. Finalmente, de-

seo dedicar esta contribución a los pobladores de toda la región de Los Tuxtlas, una región mítica e inspiradora.

## Bibliografía

Choate, J. (1970). *Systematics and zoogeography of Middle American shrews of the genus Cryptotis*. University of Kansas Publications, Museum of Natural History, 19, 195–317.

Colunga-Salas, P., Marines-Macías, T., Hernández-Canchola, G., Barbosa, S., Ramírez, C., Searle, J. B., & Leon-Paniagua, L. (2023). *Population genomics reveals differences in genetic structure between two endemic arboreal rodent species in threatened cloud forest habitat*. *Mammal Research*, 68(2), 223-235. <https://doi.org/10.1007/s13364-022-00667-x>

Durand, L., & Lazos, E. (2008). *The local perception of tropical deforestation and its relation to conservation policies in Los Tuxtlas Biosphere Reserve, Mexico*. *Human Ecology*, 36, 383-394. <https://doi.org/10.1007/s10745-008-9172-7>

Espíndola, J. M., Zamora-Camacho, A., Godínez, M. L., Schaaf, P., & Rodríguez, S. R. (2010). *The 1793 eruption of San Martín Tuxtla volcano, Veracruz, Mexico*. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 197(1-4), 188-208. <https://doi.org/10.1016/j.jvolgeores.2009.08.005>

Goldman, E. A. (1951). *Biological investigations in Mexico*. Smithsonian Miscellaneous Collections.

Goodman, S. M., & Hutterer, R. (2004). *A report on the shrews (Mammalia: Soricidae) of Monts Doudou, Gabon: Elevational distribution and preliminary insights into their ecology*. *California Academy of Sciences Memoirs*, 28, 93-105.

Guevara, L. (2018). *Buscando a la musaraña de Los Tuxtlas*. *Historias de campo. Especies, revista sobre Conservación y Biodiversidad*. Naturalia A.C. Octubre-Diciembre 2018.

Guevara, L. (2020). *Altitudinal, latitudinal and longitudinal responses of cloud forest species to Quaternary glaciations in the northern Neotropics*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 130(3), 615-625. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa070>

Guevara, L. (2021). *The legacy of the fieldwork of EW Nelson and EA Goldman in Mexico (1892–1906) for research on poorly known mammals*. *History and Philosophy of the Life Sciences*, 43(1), 31. <https://doi.org/10.1007/s40656-021-00386-7>

- Guevara, L., & Cervantes, F. A. (2014). *Molecular systematics of small-eared shrews (Soricomorpha, Mammalia) within Cryptotis mexicanus species group from Mesoamérica*. *Acta Theriologica*, 59, 233–242. <https://doi.org/10.1007/s13364-013-0165-6>
- Guevara, L., & Cervantes, F. A. (2017). *Occurrence of syntopic species of shrews (Mammalia, Eulipotyphla) in a montane cloud forest of Mexico*. *Mammalogy Notes*, 4(1), 14-17.
- Guevara, L., & Sánchez-Cordero, V. (2018). *New records of a critically endangered shrew from Mexican cloud forests (Soricidae, Cryptotis nelsoni) and prospects for future field research*. *Biodiversity Data Journal*, (6). <https://doi.org/10.3897/BDJ.6.e26667>
- Guevara, L., Cervantes, F. A., & Sánchez-Cordero, V. (2015). *Riqueza, distribución y conservación de los topos y las musarañas (Mammalia, Eulipotyphla) de México*. *Therya*, 6, 43-68. <https://doi.org/10.12933/therya-15-211>
- Guevara L., & Laborde J. (2012). *The Mesoamerican rain forest environmental history*. *Livestock and landscape biodiversity at Los Tuxtlas, México*. *Pastos* 42, 219–248.
- Hall E R., & Dalquest W. W. (1963). *The mammals of Veracruz*. University of Kansas Publications, Lawrence, Kansas, USA.
- López-Medellín, X., & Medellín, R. A. (2016). *The influence of E. W. Nelson and E. A. Goldman on Mexican mammalogy*. *Special Publications, Museum of Texas Tech University*, 64, 87–103.
- Marines-Macías, T., Colunga-Salas, P., Verde Arregoitia, L. D., Naranjo, E. J., & León-Paniagua, L. (2018). *Space use by two arboreal rodent species in a Neotropical cloud forest*. *Journal of Natural History*, 52(21-22), 1417-1431. <https://doi.org/10.1080/00222933.2018.1459921>
- Matson, J., Cuarón, A.D. & de Grammont, P.C. (2018). *Cryptotis nelsoni*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T136389A22284939. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T136389A22284939.en>. Accessed on 15 August 2023

Merriam, C. H. (1895). *Revision of the shrews of the American genera Blarina and Notiosorex*. North American Fauna, 10, 5–34.

Moziño, J. M. (1870) *Informe sobre la erupción del Volcán de San Martín Tuxtla (Veracruz) ocurrida el año de 1793*. Boletín de la Sociedad de Geografía y Estadística, 2, 62-72.

Ríos-Solís, J. A., Flores-Martínez, J. J., Sánchez-Cordero, V., & Lavariega, M. C. (2021). *Diversity and activity patterns of medium-and large-sized terrestrial mammals at the Los Tuxtlas Biosphere Reserve, México*. *Therya*, 12(2), 237-248. <https://doi.org/10.12933/therya-21-1105>

Rojas-Soto, O. R., Sosa, V., & Ornelas, J. F. (2012). *Forecasting cloud forest in eastern and southern Mexico: conservation insights under future climate change scenarios*. *Biodiversity and Conservation*, 21, 2671-2690. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0327-x>

Siemens, A. H. (2009). *Una manera de ver Los Tuxtlas: paisaje de Mesoamérica*. México D.F.: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Corredor Biológico Mesoamericano México.

Von Thaden, J. J., Laborde, J., Guevara, S., & Venegas-Barrera, C. S. (2018). *Forest cover change in the Los Tuxtlas Biosphere Reserve and its future: The contribution of the 1998 protected natural area decree*. *Land Use Policy*, 72, 443-450. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2017.12.040>

Woodman, N., & Timm, R. (1999). *Geographic variation and evolutionary relationships among broad-clawed shrews of the Cryptotis goldmani-group (Mammalia: Insectivora: Soricidae)*. *Fieldiana. Zoology*, 91, 1–35.

**Capítulo 5**  
Aplicación de la Bionanotecnología  
en la conservación de mamíferos  
en riesgo: Rumiantes domésticos  
y silvestres

Patricia Rodríguez Santillán  
Salvador Romo García



## Introducción

Nos encontramos en una era geológica en la que la actividad humana tiene un gran impacto en los sistemas naturales. La industria produce desechos que provocan la acidificación de los océanos debido a la absorción de dióxido de carbono, afectando así a las especies marinas. Además, la urbanización, la práctica de una agricultura intensiva y la consecuente deforestación erosionan la superficie terrestre. No obstante, el fenómeno más distintivo de esta época es, sin lugar a duda, la contaminación por residuos plásticos, que se acumulan en los ríos y océanos (FAO, 2023).

Otro cambio grave es el calentamiento global, causado por la emisión de gases de efecto invernadero, lo que ha provocado una disminución del 68% de la biodiversidad desde 1970 hasta la fecha. La pérdida o extinción de biodiversidad se debe a la destrucción de hábitats, la caza furtiva y la introducción no controlada de especies no nativas, entre otras causas (IPBES, 2017).

Según la Organización de las Naciones Unidas, estamos enfrentando la “sexta extinción masiva” (IPBES, 2016), en la que el impacto de las actividades humanas en los ecosistemas pone en riesgo a la extinción de muchas especies. Nos informan que existen 8,300 especies animales, de las cuales el 8% ya se ha extinguido y el 22% se encuentra en peligro de extinción. Estos daños a la biodiversidad y al medio ambiente son irreversibles.

La FAO (2023), categoriza las especies en diferentes grupos según el riesgo, con el objetivo de desarrollar las mejores estrategias y, sobre todo, dar prioridad a los casos que requieren una verificación urgente. Estos criterios se utilizan para evaluar el alcance del riesgo al que se enfrenta la población.

La FAO (2023) afirma que cuando el tamaño de la población de una especie de ganado doméstico, cae dentro del rango de 100 a 1,000 hembras reproductoras, “indica que la especie y/o raza está en riesgo de extinción”. Además, enfatiza que sin intervención, el tamaño efectivo de la población suele ser insuficiente para prevenir la pérdida genética continua en las generaciones posteriores. Existe un riesgo real de pérdida espontánea, ya sea por enfermedades repentinas o por negligencia humana. El sistema de clasificación de la FAO para describir los niveles de riesgo de las razas pecuarias se basa principalmente en factores como el tamaño general de la pobla-

ción, el número de hembras reproductivas y la tendencia de la población (en aumento, en disminución o estable). En los casos en que el estado de una raza se encuentre entre dos categorías, se tienen en cuenta factores adicionales, como el uso de machos en la inseminación artificial (IA), el número de dosis de semen, la acumulación de embriones y el recuento de rebaños. Cuando el número de hembras reproductoras es inferior a 100, significa que “la población está al borde de la extinción”. La presencia de un programa de conservación es otro factor considerado.

Según la clasificación de la FAO (2023).

**Raza extinta o desaparecida:** esta categoría se aplica cuando resulta imposible restablecer la población de una raza. La extinción se confirma cuando no quedan machos (semen), hembras (ovocitos) ni embriones, aunque en la práctica puede establecerse antes de la pérdida del último animal o embrión.

**Raza en Situación Crítica:** Esta clasificación se utiliza cuando el recuento total de hembras reproductoras es inferior a 100, o el número total de machos reproductores es inferior o igual a cinco. También se aplica cuando el tamaño de la población total es superior a 100 pero está disminuyendo, y el porcentaje de hembras puras cae por debajo del 80%.

**Raza en peligro de extinción:** esta categoría se aplica a razas en las que el número total de hembras reproductoras se encuentra entre 100 y 1000, o el número total de machos reproductores es menor o igual a 20 pero superior a 5. También incluye casos en los que el tamaño total de la población está por encima de 100 y va en aumento, con un porcentaje de hembras de raza pura que supera el 80%. Alternativamente, se aplica a poblaciones que superan los 1.000 pero que están disminuyendo, con el porcentaje de hembras de pura raza cayendo por debajo del 80%.

**Raza mantenida en estado crítico y en peligro de extinción:** estas designaciones identifican poblaciones críticas o en peligro de extinción que se gestionan activamente dentro de un programa de conservación, ya sea por empresas privadas o entidades públicas.

Raza que no está en riesgo: esta categoría se utiliza cuando el número total de hembras y machos reproductores supera los 1000 y 20, respectivamente, o cuando el tamaño de la población se acerca a al 1000, el porcentaje de hembras de raza pura es casi del 100% y el tamaño general de la población está aumentando.

Finalmente, existe una categoría para razas cuyo estatus se desconoce. Se trata de razas de las que no se dispone del recuento poblacional por diversos factores, por lo que no se pueden clasificar en ninguna de las categorías antes mencionadas por falta de información.

México ocupa el tercer lugar con mayor número de especies mamíferas en riesgo, después de Indonesia y Madagascar. Algunas especies de rumiantes que se encuentran en riesgo incluyen al Borrego Cimarrón de Sierra Nevada (*Ovis canadensis sierrae*), Borrego Cimarrón del Desierto (*Ovis canadensis nelsoni*), bisonte americano (*Bison bison*), y exóticas a México encontramos a: Saola (*Pseudoryx nghetinhensis*), Antílope Addax (*Addax nasomaculatus*), el Antílope Saiga (*Saiga tatarica*), Gacela Dama (*Nanger dama*), Banteng (*Bos javanicus*), Markhor (*Capra falconeri*), Gacela de Montaña del Atlas (*Gazella cuvieri*) y la Cebra de Grevy (*Equus grevyi*), entre otros (Timmins et al., 2016).

Si no se implementan medidas nuevas y diferentes junto con las medidas tradicionales, más de un millón de especies que estarán en riesgo. Todos tenemos la responsabilidad para preservar y gestionar de manera sostenible el planeta y sus recursos naturales. En este contexto, la Nanotecnología verde proporciona respuestas creativas para abordar la disminución de la biodiversidad y salvaguardar las especies en peligro de extinción.

Gracias a su capacidad para crear tecnologías ecológicas y eficaces, este campo emerge como un aliado crucial en el ámbito de la conservación del medio ambiente. Veamos.

## Nanotecnología

La nanotecnología es un campo científico emergente que experimenta una rápida expansión y se centra en el estudio de estructuras y sustancias a una escala increíblemente pequeña, a menudo a nivel atómico o molecu-

lar; donde un nanómetro representa una milmillonésima parte de un metro ( $10^{-9}$  m) (Bayda *et al.*, 2020).

El concepto de nanotecnología fue introducido por el físico y premio Nobel Richard Feynman en 1959 durante su conferencia titulada “Hay mucho espacio en el fondo”. En esta conferencia, enfatizó la importancia de manipular átomos individuales como un enfoque fundamental para la síntesis (National Nanotechnology Initiative, 2021). Aproximadamente quince años después, en 1974, Norio Taniguchi acuñó el término “nanotecnología”. El término ‘Nano’ deriva del prefijo griego que significa “enano” (Bayda *et al.*, 2020).

El Consejo Nacional de Iniciativas de Nanotecnología de Estados Unidos (2004) define la nanotecnología como “la comprensión y el control de la materia a escala nanométrica, típicamente en el rango de 1 a 100 nanómetros”. Esto es sumamente interesante, ya que a esta escala, las propiedades físicas, químicas y biológicas de los materiales a menudo exhiben comportamientos distintos en comparación con sus contrapartes a mayor escala (Jeevanandam *et al.*, 2018).

La Nanotecnología ha encontrado aplicaciones en diversos campos científicos, produciendo resultados prometedores y alentadores. Ofrece una diversidad de herramientas de diagnóstico que son más económicas, más rápidas y sensibles que sus homólogos a mayor escala. Los nanosistemas poseen características fisicoquímicas que superan a los materiales de mayor tamaño, ya que mejora la relación entre superficie-volumen, poseen mayor reactividad, mayor estabilidad, funcionalidad mejorada, una mayor biodisponibilidad, y una administración precisa de entrega de fármacos dirigida a sitios específicos (Archunan, 2020).

Los nanosistemas tienen capacidades superiores para penetrar en células, tejidos y órganos (biodisponibilidad) en comparación con partículas más grandes, y tienen el potencial de abordar los desafíos relacionados con la escasa bioaccesibilidad y la alta toxicidad (Prasad *et al.*, 2021). En las últimas décadas, los investigadores han trabajado con una amplia variedad de nanomateriales innovadores, incluyendo polímeros, nanotubos de carbono, dendrímeros, óxidos de silicio, sustancias inorgánicas, puntos cuánticos, liposomas; y, lo mejor es que se emplea componentes orgánicos e inorgánicos inofensivos para la célula (Cerbu *et al.*, 2021). Un ejemplo de nanosistema son

las nanopartículas, que se pueden clasificar, dependiendo de su origen, tamaño, forma y características químicas, y suelen tener un diámetro inferior a 1000 nanómetros (Jeevanandam *et al.*, 2018). Las nanopartículas orgánicas comprenden materiales coloidales que se distinguen por sus características fisicoquímicas distintivas y dependientes del tamaño, que abarcan propiedades ópticas, magnéticas, catalíticas y electroquímicas. Las propiedades antimicrobianas de algunas nanopartículas las hace importantes tanto para la salud del animal, como para la salud pública (Cerbú *et al.*, 2021).

Entre las variedades más comunes de nanopartículas orgánicas se encuentran las nanopartículas poliméricas, liposomas, micelas y dendrímeros. Las nanopartículas inorgánicas representan una categoría diversa de nanomateriales, incluidos puntos cuánticos, nanosensores, nanotubos de carbono, buckybolos, nanocáscaras, plata y óxido de hierro. Estos materiales suelen considerarse seguros y no tóxicos, y exhiben propiedades ópticas y eléctricas únicas que pueden adaptarse y optimizarse durante sus procesos de desarrollo (Dhoolappa *et al.*, 2022).

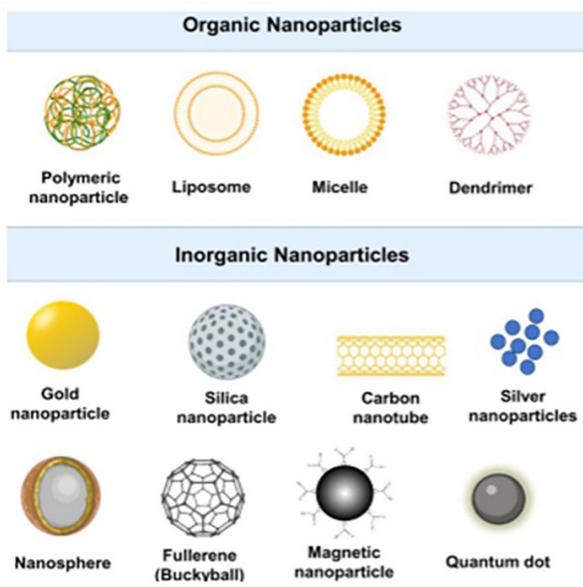


Figura 1: Representación de diferentes Nanopartículas (Khan *et al.*, 2019).

Los nanosistemas se pueden producir mediante diferentes métodos, pero principalmente existen dos enfoques: *bottom-up* y *top-down*. La síntesis de arriba hacia abajo (*top-down*) implica un proceso destructivo, en el que se parte de una molécula más grande, se descompone en unidades más pequeñas y luego se transforman en nanopartículas mediante cizallamiento. Por el contrario, la síntesis ascendente (*bottom-up*) representa un proceso inverso en comparación con el enfoque descendente. En este método, las nanopartículas se crean a partir de sustancias más simples y a menudo se lo denomina método de construcción (Khan *et al.*, 2019).

Los nanosistemas, como las nanopartículas o las nanoemulsiones, son considerablemente más pequeños que el tamaño de una célula eucariota, lo que facilita su entrada a través de la membrana celular, los tejidos y los órganos. Esta propiedad hace que estos nanosistemas encuentren aplicaciones en imagenología, la terapia génica y la liberación controlada de fármacos (Jeevanandam *et al.*, 2018).

La bionanotecnología verde (*inocua*) tiene un gran potencial para desencadenar transformaciones revolucionarias en diversos sectores, como la agricultura y la ganadería. Además, tiene la capacidad de reestructurar numerosos campos científicos, como la química, la biología molecular, la biotecnología, la informática, la medicina veterinaria y la reproducción animal. La bionanotecnología ha surgido como una rama científica innovadora que abarca casi todos los campos. Ofrece sistemas eficaces de administración de fármacos precisos, permite la detección temprana de enfermedades, facilita las aplicaciones terapéuticas, promueve la nanomedicina, y mejora los procesos de cría y reproducción, a la vez que agrega mayor valor a los productos pecuarios. Sin embargo, es importante señalar que, si bien la bionanotecnología representa uno de los avances más significativos en la ciencia, su aplicación en medicina veterinaria todavía se encuentra en sus etapas iniciales en comparación con su utilización en otros campos estrechamente relacionados (Smith *et al.*, 2018).

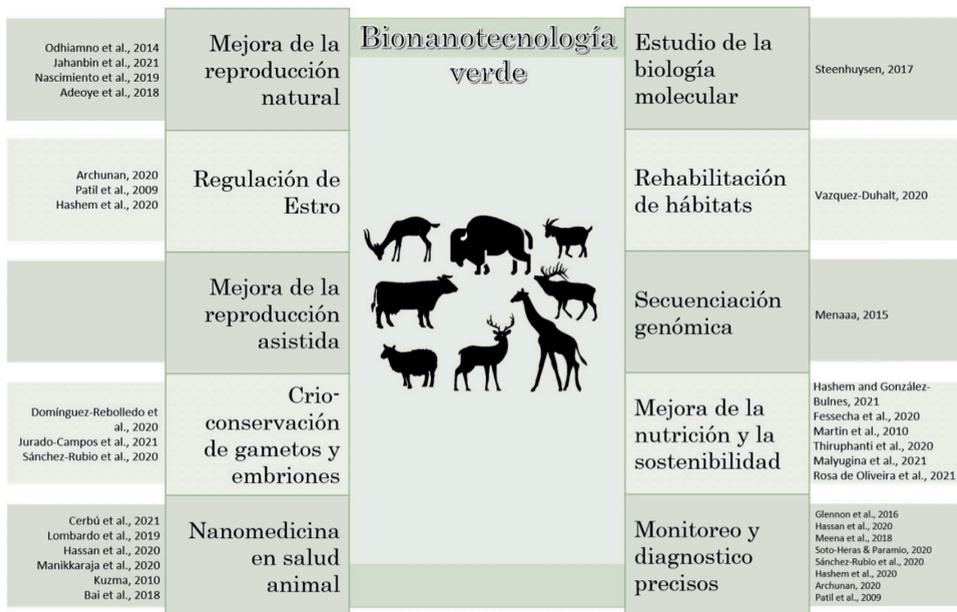


Figura 2. Aplicación de la Bionanotecnología verde en Rumiantes en peligro (fuente propia).

## La Bionanotecnología verde en la conservación de mamíferos en riesgo

La bionanotecnología puede desempeñar un papel fundamental en la conservación de mamíferos en riesgo de extinción, al proporcionar herramientas e innovaciones para abordar los desafíos que enfrentan estas poblaciones. Esto incluye el desarrollo de sistemas de liberación controlada de hormonas y factores de crecimiento para optimizar técnicas de reproducción asistida como la inseminación artificial y la fertilización in vitro, con el objetivo de aumentar la tasa de éxito reproductivo de estos mamíferos en peligro (Fig 1). A continuación, se presentan áreas específicas en las que la bionanotecnología puede contribuir a la conservación y recuperación de mamíferos amenazados:

## Mejora de la reproducción natural y asistida

La bionanotecnología verde, se ha demostrado efectiva para mejorar la reproducción, tanto de forma natural como asistida. Por ejemplo, el uso de espermatozoides de toro (*Bos taurus*) nanopurificados ha logrado tasas de preñez similares a las obtenidas con espermatozoides no purificados, pero con la mitad de la dosis y sin efectos adversos en el ganado inseminado (Odhiambo *et al.*, 2014). Además, se ha empleado una sola muestra de espermatozoides nanopurificados diluido para inseminar a un mayor número de hembras (Petruska *et al.*, 2014).

Investigaciones recientes han demostrado que la utilización de nanopartículas de zinc mejora la actividad mitocondrial, fortalece la integridad de la membrana, reduce la peroxidación lipídica y aumenta la capacidad antioxidante total en el espermatozoides bovino (Jahanbin *et al.*, 2021).

Ciertas nanopartículas exhiben propiedades antioxidantes, que brindan protección a los espermatozoides contra especies reactivas de oxígeno. Por ejemplo, los óxidos de cerio son capaces de conservar oxígeno y servir como eliminadores de especies reactivas de oxígeno, preservando así la funcionalidad del espermatozoides durante los procesos de enfriamiento. Estas nanopartículas también parecen mejorar la motilidad de los espermatozoides en los carneros. Además, se emplean para aumentar las tasas de concepción y mejorar la descendencia mediante la identificación y eliminación de espermatozoides defectuosos. Por ejemplo, el óxido ferroso, debido a sus propiedades magnéticas, puede unirse a espermatozoides defectuosos junto con lectinas o anticuerpos (Falchi *et al.*, 2018).

Investigaciones “*in vitro*” con Nano-selenio, han examinado el impacto de las nanopartículas de selenio en la maduración de los ovocitos de búfala. Los resultados indican que la suplementación con selenio, ya sea en forma de nanopartículas o de mayor tamaño, mejora la maduración de los ovocitos de búfala. En particular, el tamaño de las nanopartículas influye en esta mejora. Además, en comparación con las nanopartículas de selenio a mayor escala (40 nm), las nanopartículas de selenio estimulan una mayor expresión de genes antioxidantes (El-Naby *et al.*, 2020).

Se han desarrollado técnicas de nanopurificación para separar los espermatozoides dañados de los espermatozoides sanos e intactos. Un método

basado en proteínas implica la unión de nanopartículas magnéticas con anticuerpos específicos que se dirigen a la ubiquitina o la lectina, marcadores de superficie de membrana de espermatozoides anormales (El-Naby *et al.*, 2020).

Estudios con nanopartículas producidas a partir de extractos de plantas se han empleado con éxito en sistemas de cultivo de folículos preantrales. Nascimento *et al.*, (2019) documentaron que las nanopartículas funcionalizadas con extracto hidroetanólico de propóleo rojo condujeron a mayores niveles de glutatión (GSH), mayor actividad mitocondrial y mayor formación de antro en folículos preantrales ovinos cultivados *in vitro*.

El glutatión (GSH) es un tripéptido que comprende los aminoácidos cisteína, glicina y glutamina, conocido por su papel fundamental en la lucha contra el estrés oxidativo (Adeoye *et al.*, 2018). Por lo tanto, elevar los niveles de GSH durante el cultivo *in vitro* de folículos preantrales tiene gran importancia para reducir el estrés oxidativo dentro de las células y promover el crecimiento y la viabilidad de los folículos (Soto-Heras y Paramio, 2020).

## En la criopreservación de gametos y embriones

La nanotecnología aplicada a la criobiología puede mejorar las técnicas de criopreservación de gametos (óvulos y espermatozoides) y embriones, permitiendo almacenar material genético de individuos en peligro crítico y facilitando la reproducción futura de su especie.

La vitamina E con sus excepcionales propiedades antioxidantes, se establece como una herramienta efectiva para proteger las muestras de espermatozoides al reducir la producción de ROS y la peroxidación lipídica. Numerosos estudios respaldan su capacidad para reducir significativamente el daño al ADN y al acrosoma, subrayando su papel fundamental en la preservación de la integridad genética y funcional del espermatozoide. Sin embargo, a pesar de sus notables ventajas, este potente antioxidante presenta limitaciones, siendo sumamente susceptible a la inestabilidad cuando se expone a procesos oxidativos o fluctuaciones en el pH, incluso en concentraciones bajas. Esta limitación se supera mediante el uso y la fabricación de nanoemulsiones, nanopartículas e hidrogeles, que contienen Vit E (Domínguez-Rebolledo *et al.*, 2010).

Los estudios “*in vitro*” destinados a mitigar el estrés oxidativo y el shock de frío durante el almacenamiento del esperma de carnero representan un avance crucial en las técnicas de inseminación artificial (IA) de carneros. Se han desarrollado diversos nanodispositivos que incorporan vitamina E para su uso en inseminación artificial y fertilización “*in vitro*” incluyendo nanoemulsiones e hidrogeles (Jurado-Campos *et al.*, 2021).

Se han realizado evaluaciones de viabilidad y funcionalidad de estos nanodispositivos utilizando muestras de ciervo (*Cervus elaphus hispanicus*) y carnero (*Ovis aries*), tanto frescas como descongeladas. La utilización de estos nanodispositivos ha demostrado mejoras significativas en los parámetros de motilidad de los espermatozoides en comparación con la vitamina E libre, al tiempo que ha reducido la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la peroxidación lipídica, especialmente en condiciones de estrés oxidativo (Sánchez-Rubio *et al.*, 2020).

## Mejora de la Nutrición y la Sostenibilidad

La bionanotecnología verde, también contribuye a la mejora de la nutrición animal. Las formulaciones de aceites nanoemulsionados reducen la tasa de conversión de ácidos grasos poliinsaturados en ácidos grasos saturados dentro del rumen de los animales, lo que beneficia tanto la nutrición animal como en la reducción en el impacto ambiental (Hashem y González-Bulnes, 2021).

Además, gracias a numerosos estudios se ha demostrado que las nanopartículas tienen un tiempo de retención prolongado dentro del tracto gastrointestinal (TGI), lo que resulta en una mayor absorción de nutrientes desde el TGI (Fesseha *et al.*, 2020). En la producción animal, la reducción de los niveles de producción de metano es esencial para mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero y mejorar la eficiencia de la conversión alimenticia. Un ejemplo de la aplicación de la herramienta de bionanotecnología son las nanopartículas de óxido de Zinc que se muestran eficaces para reducir la población de arqueas metanogénicas, responsables de generar CH<sub>4</sub> a partir de CO<sub>2</sub> (Martin *et al.*, 2010). Se ha observado que la taurina desempeña un papel crucial en la mejora de la función celular. El uso excesivo de los músculos puede provocar una disminución de los niveles de taurina, esto debido a la generación de especies reactivas de oxígeno. Esta deficien-

cia se puede abordar mediante la introducción de nanopartículas de taurina en la dieta, promoviendo una mejor organización muscular. (Thirupathi *et al.*, 2020). La deficiencia de selenio en la dieta puede ocasionar diversos problemas de salud, como la disfunción del sistema inmunológico, necrosis hepática, distrofia muscular e irregularidades de la tiroides, entre otros. La Bionanotecnología ha permitido la fabricación de nanopartículas de Selenio biogénico, mejorando significativamente su biodisponibilidad, lo que tiene un impacto positivo en la nutrición animal (Malyugina *et al.*, 2021). Para prevenir la acumulación excesiva de grasa en el torrente sanguíneo, se puede emplear nanocelulosa (Rosa de Oliveira *et al.*, 2021).

## Monitoreo y diagnóstico Precisos

En el ámbito de la conservación de mamíferos en riesgo, los nanosensores y nanodispositivos se desempeñan un papel fundamental al permitir el monitoreo de la salud de poblaciones, la detección temprana de enfermedades y la recopilación de datos sobre su comportamiento y estado físico. Esta información respalda en la toma de decisiones basadas en evidencia para la gestión de la conservación. Los biosensores portátiles representan tecnologías innovadoras que están ganando cada vez más importancia en la salud y el manejo animal. Estos dispositivos se pueden aplicar a animales para monitorear la composición del sudor y analizar los niveles de sodio en tiempo real (Glennon *et al.*, 2016).

La bionanotecnología avanza en su capacidad para mantener y mejorar la salud y bienestar de las poblaciones de mamíferos en riesgo. Por lo que en medicina veterinaria, varios nanosensores han demostrado su eficacia en aplicaciones de diagnóstico. Por ejemplo, los nanosensores recubiertos con sílice, con núcleo de óxido de hierro, son valiosos para detectar patógenos como *Mycobacterium avium paratuberculosis* y *Escherichia coli* O157:H7 (Hassan *et al.*, 2020).

Una amplia variedad de nanomateriales encuentra aplicaciones en diversos campos. Por ejemplo, las nanocáscaras se emplean para la destrucción de células cancerosas mediante radiación infrarroja (IR), los nanotubos de carbono sirven como sensores y para la administración de fármacos, las nanopartículas de oro se utilizan en el diagnóstico de enfermedades, la pla-

ta nanocristalina actúa como agente antimicrobiano y las nanopartículas de óxido de hierro mejoran las imágenes de resonancia magnética (MRI) (Meena *et al.*, 2018).

## Nanomedicina en salud animal

La aplicación de la bionanotecnología verde en la medicina veterinaria ofrece la posibilidad de tratamientos más eficaces para las enfermedades que afectan a los mamíferos en peligro de extinción. Los nanofármacos y los sistemas de liberación controlada pueden aumentar la eficacia de los tratamientos y reducir los efectos secundarios (Bai *et al.*, 2018).

Al día de hoy, los antibióticos se utilizan con frecuencia para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Sin embargo, los elevados costos asociados a los servicios de medicación y tratamiento en el sector veterinario han impulsado la búsqueda de soluciones innovadoras. Se han desarrollado sistemas de base nanométrica para que sirvan como transportadores de diversas sustancias, incluidos anticuerpos, vacunas, medicamentos y hormonas, dirigidas a sitios específicos. Estos medicamentos administrados demuestran una eficacia y seguridad significativamente mayores en comparación con los métodos tradicionales de administración de medicamentos (Hassan *et al.*, 2020).

Las nanopartículas, nanoemulsiones, nanogeles y nanocápsulas son algunos de los vehículos basados en nanomateriales más utilizados para la liberación controlada de fármacos en lugares específicos. Estos nanoportadores también brindan protección contra la desactivación y degradación por oxidación de las hormonas esteroides y vitaminas administradas (Cerbu *et al.*, 2021).

Se propone el diseño de sistemas de nanoadministración que contengan antioxidantes bioactivos naturales de origen vegetal, como nanoresveratrol, nanocurcumina, nanoquercetina, nanogenisteína y nanoepigallocatequina-3-galato, junto con hormonas antioxidantes como la melatonina. Estos sistemas han demostrado ser eficaces en la regulación celular y en la prevención del estrés oxidativo (Lombardo *et al.*, 2019). En investigaciones recientes, nanoestructuras derivadas de la glucosa y la sacarosa han servido como nanoportadores para administrar agentes anticancerígenos a los pul-

mones para el tratamiento del carcinoma, donde nanopartículas de óxido de hierro se emplean para transportar fármacos a tejidos cancerosos. Las nanopartículas a base de platino también son prometedoras como agentes anticancerígenos eficaces (Hassan *et al.*, 2020).

Muchos de los fármacos actualmente en uso presentan una biodisponibilidad limitada y efectos secundarios indeseables. Aproximadamente el 95% de los fármacos terapéuticos adolecen de biodisponibilidad y farmacocinética deficientes. Numerosos estudios han demostrado la importante eficacia de las nanopartículas en la administración de compuestos antineoplásicos, antimicrobianos y antiinflamatorios (Manikkaraja *et al.*, 2020). Las nanopartículas se han empleado como portadores de hormonas de crecimiento para aumentar la producción en cerdos, pero de manera similar, en las ovejas y otros animales de ganado, las nanopartículas sirven también como portadores de vacunas, lo que ayuda a mejorar la administración de vacunas (Kuzma, 2010).

Los liposomas son vesículas sintéticas con un tamaño de entre 100 y 2,5 micrómetros, que encapsulan fármacos en un núcleo acuoso rodeado por una bicapa lipídica. Se utilizan principalmente para transportar diversos ingredientes cosméticos y farmacéuticos a sitios de destino específicos. Estudios similares con liposomas indican que la administración de fármacos asistida por liposomas ha tenido éxito en caninos, y los ensayos con vacunas basadas en liposomas para ganado han demostrado ser prometedores. Por ejemplo, la gentamicina encapsulada en liposomas ha demostrado eficacia en el tratamiento de la mastitis en el ganado causada por patógenos resistentes a múltiples fármacos (Bai *et al.*, 2018).

## Regulación del estrógeno

La nanotecnología desempeña un papel importante en los tratamientos hormonales al imitar hormonas de alto peso molecular. A pesar de su bajo peso molecular, la nanotecnología mejora la absorción de hormonas, aumentando así su eficacia en comparación con los métodos de administración convencionales (Hashem *et al.*, 2020).

El desarrollo de varios protocolos basados en feromonas para la regulación biológica de los eventos reproductivos ha abarcado diversos aspectos, como el efecto masculino, la detección del estro, el anestro posparto, el diagnóstico de preñez, la actividad sexual del macho y el comportamiento bovino-becerro, esto nos lleva al camino de la tecnología de administración de nanofármacos en aerosol (Archunan, 2020).

Otra aportación de la bionanotecnología es la colocación intradérmica de nanotubos, que proporciona un medio para evaluar los niveles de hormonas sexuales, específicamente el anticuerpo estradiol, este avance resulta valioso para detectar el estro en animales (Patil *et al.*, 2009).

La Bionanotecnología verde también ofrece posibilidades en la restauración de hábitats naturales. Puede desempeñar un papel importante al eliminar contaminantes del suelo y el agua, contribuyendo así a mejorar la calidad del medio ambiente y proporcionando un mejor hábitat para la vida silvestre (Vazquez-Duhalt, 2020).

La nanotecnología ha impulsado avances en la secuenciación del ADN y la genómica, lo que a su vez permite una comprensión más profunda de la diversidad genética en poblaciones en peligro de extinción. Estos avances pueden ser fundamentales para diseñar estrategias de reproducción selectiva destinadas a preservar la variabilidad genética de estas poblaciones (Menaar, 2015).

La nanotecnología facilita el estudio de la biología molecular y celular de los mamíferos en riesgo, lo que puede conducir a una comprensión más profunda de las amenazas a las que se enfrentan y sus posibles soluciones (Steenhuysen, 2017).

## Perspectivas y futuro de la Bionanotecnología

Reanimación de especies extintas: con los avances, junto con el progreso tecnológico, puede resultar plausible aplicar la bionanotecnología a la clonación de especies que ya han sucumbido a la extinción. Esto abriría nuevas perspectivas para el rejuvenecimiento de los ecosistemas y el resurgimiento de especies que anteriormente habían desaparecido.

## Conclusión

La bionanotecnología verde ofrece múltiples herramientas y enfoques innovadores que pueden mejorar significativamente los esfuerzos de conservación y recuperación de mamíferos en riesgo al abordar cuestiones relacionadas con la reproducción, la salud, la genética y el monitoreo ambiental, entre otros aspectos clave. Esto puede contribuir a la preservación de estas especies en peligro de extinción y al mantenimiento de la biodiversidad.

## Bibliografía

Adeoye, O., Olawumi, J., Opeyemi, A., & Christiania, O. (2018). *Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility*. JBRA Assisted Reproduction, 22, 61–66. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180003>

Archunan, G. (2020). *Reproductive enhancement in buffalo: Looking at urinary pheromones and hormones*. Iranian Journal of Veterinary Research, 21(3), 163-171.

Bai, D. P, Lin, X.Y., Huang, Y.F., & Zhang, X.F. (2018). *Theranostics aspects of various nanoparticles in veterinary medicine*. International Journal of Molecular Sciences, 19(11), 3299.

Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M. & Rizzolio, F. (2020). *The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine*. Molecules, 25(1), 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>

Cerbu, C., Kah, M., White, J.C., Astete, C.E. & Sabliov, C.M. (2021). *Fate of biodegradable engineered nanoparticles used in veterinary medicine as delivery systems from a one health perspective*. Molecules, 26(3), 523. <https://doi.org/10.3390/molecules26030523>

Dhoolappa, M., Prasad, R.V., Lakshmishree, K.T., Sundareshan, S., Choudari, M. & Nayak, U.Y. (2022). *Nano bioscaffolds as wound healing biomaterials in animals*. Indian Journal of Animal Research, 56(9), 1149-1153.

Domínguez-Rebolledo, A.E., Fernández-Santos, M.R., Bisbal, A., Ros-Santaela, J.L., Ramón, M., & Carmona, M. (2020). *Improving the effect of incubation and oxidative stress on thawed spermatozoa from red deer by using different antioxidant treatments*. Reproduction Fertility and Development, 22, 856–70.

El-Naby, A.S.A.H., Ibrahim, S., Hozyen, H.F., Sosa, A.S.A., Mahmoud, K.G.M. & Farghali, A.A. (2020). *Impact of nano-selenium on nuclear maturation and genes expression profile of buffalo oocytes matured in vitro*. Molecular Biology Reports, 47(11), 8593-8603.

Falchi, L., Khalil, W.A., Hassan, M., & Marei, W.F. (2018). *Perspectives of nanotechnology in male fertility and sperm function*. International Journal of Veterinary Science, 6(2), 265-9.

FAO. (2023). *Effectiveness of biodiversity conservation, for M. Jenkins & D. Williamson. In Biodiversity and the ecosystem approach in agriculture, forestry and fisheries. Actas del acto paralelo en ocasión de la novena reunión de la Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura, Roma, págs. 100–116.*

Fesseha, H., Degu, T., & Getachew, Y. (2020) *Nanotechnology, and its application in animal production: a review. Veterinary Medicine Open Journal, 5(2), 43-50.*

Glennon, T., O'Quigley, C., McCaul, M., Matzeu, G., Beirne, S., Wallace, G.G., & Diamond, D. (2016). 'SW EATCH': A wearable platform for harvesting and analysing sweat sodium content. *Electroanalysis, 28(6), 1283-1289.*

Hashem, N.M., & Gonzalez-Bulnes, A. (2020). *State-of-the-art and prospective of nanotechnologies for smart reproductive management of farm animals. Animals, 10(5), 840.*

Hashem, N.M., Gonzalez-Bulnes, A. (2021). *Nanotechnology and reproductive management of farm animals: challenges and advances. Animals, 11(7), 1-19.*

Hassan, A. A., Mansour, M.K., El Hamaky, A.M., El Ahl, R.M., & Oraby, N.H. (2020). *Nanomaterials and nanocomposite applications in veterinary medicine. In: Multifunctional Hybrid Nanomaterials for Sustainable Agri-Food and Ecosystems. Elsevier; pp. 583-638.*

IPBES. (2016). *Informe de evaluación de la Plataforma Intergubernamental Científico-normativa sobre Diversidad Biológica y Servicios de los Ecosistemas sobre los polinizadores, polinización y producción de alimentos. S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, H. T. Ngo, J. C. Biesmeijer, T. D. Breeze, L. V. Dicks, L. A. Garibaldi, R. Hill, J. Settele, A. J. Vanbergen, M. A. Aizen, S. A. Cunningham, C. Eardley, B. M. Freitas, N. Gallai, P. G. Kevan, A. Kovács-Hostyánszki, P. K. Kwapong, J. Li, X. Li, D. J. Martins, G. Nates-Parra, J. S. Pettis, R. Rader, y B. F. Viana (eds.), secretaria de la Plataforma Intergubernamental Científico-normativa sobre Diversidad Biológica y Servicios de los Ecosistemas, Bonn (Alemania), 2016. <http://doi.org/10.5281/zenodo.2616458>*

Jahanbin, R., Yazdanshenas, P., Mehdi, A.A., Abdollah, M.S., Varnaseri, H., & Chamani, M. (2021). *Effect of zinc nano-complex on bull semen quality after freeze-thawing process. Journal Animal Production, 17(2), 371-80.*

- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y.S., Dufresne, A. & Danquah, M.K. (2018). *Review on nanoparticles and nanostructured materials: History, sources, toxicity and regulations*. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9(1), 1050-1074.
- Jurado-Campos, A., Soria-Meneses, P.J., Sánchez-Rubio, F., Niza, E., Bravo, I., & Alonso-Moreno, C. (2021). *Vitamin E delivery systems increase resistance to oxidative stress in red deer sperm cells: hydrogel and nanoemulsion carriers*. *Antioxidants*, 10(11), 1780.
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). *Nanoparticles: properties, applications, and toxicities*. *Arabian Journal of Chemistry*, 12, 908-931.
- Kuzma, J., Romancheck, J. & Kokotovich, A. (2008). *Upstream oversight assessment for agrifood nanotechnology: A case studies approach*. *Risk Analysis: An International Journal*. 28(4): 1081-1098.
- Lombardo, D., Kiselev, M. A., & Caccamo, M. T. (2019). *Smartnanoparticles for drug delivery application: Development of versatile nanocarrier platforms in biotechnology and nanomedicine*. *Journal of Nanomaterials*, 3702518. <https://doi.org/10.1155/2019/3702518>
- Malyugina, S., Skalickova, S., Skladanka, J., Slama, P., & Horky, P. (2021). *Biogenic selenium nanoparticles in animal nutrition: a review*. *Agriculture*, 11(12), 1-25.
- Manikkaraja, C., Mahboob, S., Al-Ghanim, K.A., Rajesh, D., Selvaraj, K., Sivakumar, M., & Archunan, G. (2020). *A novel method to detect bovine sex pheromones using l-tyrosine-capped silver nanoparticles: Special reference to nanosensor based estrus detection*. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology*, 203, 111747.
- Martin, C., Morgavi, D.P., & Doreau, M. (2010). *Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale*. *Animals*, 4(3), 351-65.
- Meena, N., Sahni, Y., Thakur, D. & Singh, R. (2018). *Applications of nanotechnology in veterinary*. *Veterinary World*, 3(10), 477-480.
- Menea, F. (2015). *Genetic Engineering and Nanotechnology: When Science-Fiction Meets Reality*. *Advancements in Genetic Engineering*, 4(2). <https://www.longdom.org/open-access/genetic-engineering-and-nanotechnology-when-sciencefiction-meets-reality-2169-0111-1000128.pdf>

Nascimento, T. S., Silva, I. S., Alves, M. C. M., Gouveia, B. B., Barbosa, L. M. R., Macedo, T. J., Santos, J. M. S., Monte, A. P. O., Matos, M. H. T., Padilha, F. F., & Lima-Verde, I. B. (2019). *Effect of red propolis extract isolated or encapsulated in nanoparticles on their vitroculture of sheep preantral follicle: Impacts on antrum formation, mitochondrial activity and glutathione levels*. *Reproduction in Domestic Animals*, 54(1), 31–38. <https://doi.org/10.1111/rda.1334>

National Nanotechnology Initiative (NNI). (2021); Available online: <https://www.nano.gov>

National Science and Technology Council. National Nanotechnology Initiative: The Initiative and its Implementation Plan. Washington DC: Office of Science and Technology Policy; 2000. [https://www.nano.gov/sites/default/files/pub\\_resource/nni\\_implementation\\_plan\\_2000.pdf](https://www.nano.gov/sites/default/files/pub_resource/nni_implementation_plan_2000.pdf)

Odhiambo, J.F., DeJarnette, J.M., Geary, T.W., Kennedy, C.E., Suarez, S.S., Sutovsky, M. & Sutovsky, P. (2014). *Increased conception rates in beef cattle inseminated with nanopurified bull semen*. *Biology of Reproduction*. 91(4), 97-91.

Patil, S.S., Kore, K.B., & Kumar, P. (2009). *Nanotechnology, and its applications in veterinary and animal science*. *Veterinary World*, 2(12), 475-477.

Petruska, P., Capcarova, M. & Sutovsky, P. (2014). *Antioxidant supplementation and purification of semen for improved artificial insemination in livestock species*. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 38(6), 643-652.

Prasad, R.D., Charmode, N., Shrivastav, O.P., Prasad, S.R., Moghe, A., Sarvalkar, P.D. & Prasad, N.R. (2021). *A review on concept of nanotechnology in veterinary medicine*. *ES Food and Agroforestry*, 4, 28-60.

Rosa de Oliveira, G., de Andrade, C., Santos Sotomaior, C., & Batista Costa, L. (2021). *Advances in nanotechnology and the benefits of using cellulose nanofibers in animal nutrition*. *Veterinary World*, 14(11), 2843-2850.

Sánchez-Rubio, F., Soria-Meneses, P.J., Jurado-Campos, A., Bartolomé-García, J., Gómez-Rubio, V., & Soler, A.J. (2020). *Nanotechnology in reproduction: Vitamin E nanoemulsions for reducing oxidative stress in sperm cells*. *Free Radicals Biology Medicine*, 160, 47–56.

Smith, M.F., Geisert, R.D. & Parrish, J.J. (2018). *Reproduction in domestic ruminants during the past 50 yr: discovery to application*. Journal of Animal Science, 96(7), 2952- 2970.

Soto-Heras, S., & Paramio, M. T. (2020). *Impact of oxidative stress on oocyte competence for in vitro embryo production programs*. Research in Veterinary Science, 132, 342–350. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.07.013>

Steenhuysen, J. (2017). *Nanotech, gene editing used to edit cholesterol gene-US study*. Reuters. <https://www.reuters.com/article/us-health-gene/nanotech-gene-editing-used-to-edit-cholesterol-gene-u-s-study-idUSKBN1DD1ZN>

Thirupathi, A., Pinho, R.A., Baker, J.S., István, B., & Gu, Y. (2020). *Taurine reverses oxidative damages and restores the muscle function in overuse of exercised muscle*. Frontier of Physiology, 11, 1-8.

Timmins, R.J., Hedges, S. & Robichaud, W. (2016). «*Pseudoryx nghetinhensis*». Lista Roja de especies amenazadas de la UICN 2016.3 (en inglés). ISSN 2307-8235.

Vazquez-Duhalt, R. (2020). *Nanotecnología en procesos ambientales y remediación de la contaminación*. Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología. DOI: 10.22201/ceiich.24485691e.2015.14.52514.

## Capítulo 6

ProJaguar Caño Negro, experiencias  
desde el Refugio Nacional de Vida  
Silvestre Mixto Caño Negro, Costa Rica

Tatiana Guerrero Vallejos  
Renato Paniagua Rodríguez



## Introducción

La conservación de la biodiversidad dejó de ser un tema exclusivo de la academia y se ha vuelto uno de los retos más desafiantes para toda la sociedad, todos los actores involucrados, desde las poblaciones urbanas, rurales, los gobiernos locales y nacionales. La situación de la biodiversidad, junto a la salud de los ecosistemas terrestres y acuáticos está en un punto crítico, la Evaluación de los Ecosistemas del Milenio (2001) tiene como una de sus principales conclusiones que “En los últimos 50 años, los seres humanos han transformado los ecosistemas más rápida y extensamente que en ningún otro período de tiempo comparable de la historia humana, en gran parte para resolver las demandas rápidamente crecientes de alimento, agua dulce, madera, fibra y combustible” (IPBES, 2019).

Es por ello que se deben realizar muchos más esfuerzos y ensayos de procesos efectivos de conservación, a medida que intentamos adaptarnos a un cambio climático acelerado. Existen muchos ejemplos en Latinoamérica sobre como la ciencia ciudadana ha cosechado resultados positivos en las comunidades rurales e indígenas, no solo en la ampliación del conocimiento de los ecosistemas sino en la sensibilización sobre los servicios ecosistémicos y las amenazas presentes, generando un sentido de pertenencia y protección (UNESCO, 2024). Otros ejemplos vienen acompañados del ecoturismo, que en los últimos años se ha convertido en la alternativa económica más adecuado a los contextos de las comunidades alrededor de Áreas Protegidas (Obombo & Velarde, 2018).

Estos ejemplos también se pueden aterrizar en el contexto costarricense, por tanto, en esta ocasión, compartimos nuestra experiencia desde Costa Rica, específicamente, desde el Refugio Nacional de Vida Silvestre Mixto Caño Negro (RNVSM Caño Negro), un humedal y sitio Ramsar, ubicado en la frontera norte con Nicaragua, y que también es parte de un ecosistema binacional, la “Llanura de los Guatusos”.

Esta área protegida de categoría Mixta (aproximadamente 60% estatal y 40% privado) reúne interesantes características, existe un involucramiento de las comunidades locales en la toma de decisiones sobre el manejo de los recursos naturales. Existe un amplio conocimiento local, disponibilidad de

recursos naturales y el turismo de observación de vida silvestre ha venido estableciendo como una actividad económica creciente.

Este refugio de vida silvestre es parte del hábitat del jaguar (*Panthera onca*) en el Neotrópico. Para la población de jaguar en Costa Rica, Caño Negro representa un área importante para su reproducción y conservación, pues existen constantes avistamientos del felino (machos, hembras y juveniles) en el río, lagunas o las fincas de los alrededores, así como reportes de conflictos humano – vida silvestre que lo involucran.

En el año 2021, producto de un incremento de los reportes de ataque de jaguar a ganado vacuno, porcino y bovino, y la lenta respuesta del Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC), la gente local comenzó a inquietarse y organizarse para evitar la cacería de jaguar por parte de los finqueros afectados. Es ahí donde se inicia el programa ProJaguar Caño Negro, con el objetivo principal de atender casos de ataques de jaguar hacia el ganado (terneros, cerdos, ovejas) en los alrededores de Caño Negro y el Refugio de Vida Silvestre y gestionar soluciones conjuntas para disminuir los ataques y fomentar una convivencia amigable con el jaguar, sus presas y hábitat.

Se comenzó generando una base de datos de avistamientos y ataques, se visitaron varias fincas y se conversó con los propietarios para que eviten optar por matar al jaguar, sino más bien enfocar los esfuerzos en cómo mantener más seguros a los animales domésticos durante las noches, como gestionar alianzas para lograr la instalación de cercas eléctricas, y finalmente, con la instalación de cámaras trampa conocer la biodiversidad que tienen alrededor y comprender la x que finca también es hogar de mucha biodiversidad.

## Situación del jaguar en Costa Rica

El jaguar representa el carnívoro más grande de Costa Rica y es una especie clave para los ecosistemas tropicales (SINAC, 2018). Sus presas más comunes en esta zona son perezosos (*Bradypus sp.*), iguanas (*Iguana iguana*), chancho de monte (*Tayasu pecari*), tortugas marinas (*Chelonia mydas* y *Lepido-*

*chelys kempii*), caimán de anteojos (*Caiman crocodilus*), dantas (*Tapirus bairdii*), monos y otra fauna mediana (Guerrero, 2016).

El jaguar en Costa Rica presenta un movimiento particular entre los bosques y las costas caribeña y pacífica, en busca de presas. Así como, también resalta su alta relación a los cuerpos de agua (Wainwright, 2007). En cuanto a su vínculo cultural en Costa Rica, el grupo indígena Bribri del sur de Costa Rica menciona que la figura del jaguar es de gran importancia en sus creencias, al igual que la cultura indígena Maleku y la cultura Chorotega (SINAC, 2018).

En cuanto al estado de conservación del jaguar en Costa Rica, presenta un panorama negativo, así como en todo su rango de distribución. Se estima que, su población se redujo en hasta un 25% en las últimas 3 generaciones (Quigley et al., 2017; Wainwright, 2007). El jaguar ocupa menos de un tercio de su rango original en Centroamérica y menos de dos tercios de su rango original en Sudamérica (Wainwright, 2007).

En total, actualmente ocupa el 48% de su distribución original (De La Torre et al., 2018). Amenazas en constante aumento como pérdida de hábitat, contaminación, disminución de presas y cacería directa merman constantemente su población. Actualmente está catalogado como Casi Amenazado a nivel global, sin embargo, la acelerada tasa de pérdida de hábitat que ocurre en todo su rango de distribución puede ocasionar que esta categoría cambie en pocos años (Quigley et al., 2017). Por tanto, algunos autores mencionan que se debe evaluar la situación del estado de conservación del jaguar a nivel de subpoblaciones y así identificar prioridades de acuerdo a la realidad de cada región, evaluando su conectividad, viabilidad poblacional y buscar la sinergia a través de nuevas gobernanzas, que brinden mayores alternativas para una convivencia sostenible (Calderón, 2023; De La Torre, 2018). Pues en total se ha estimado la población en 64000 individuos, en 18 países, donde la mayor abundancia se encuentra en la Amazonía con el 89.2% de la población, dejando el 10.8% en el resto de su rango, por tanto, las subpoblaciones fuera de la Amazonia, no se encuentran casi amenazadas, sino que pueden ser catalogadas con un grado mayor de amenaza (De La Torre et al., 2018).

El jaguar es particularmente vulnerable a la cacería para nutrir un mercado ilegal de subproductos, desde los casos reportados en Brasil en los 60s,

donde los mercados eran principalmente Estados Unidos y Europa, hasta los casos en Bolivia entre el 2018 y 2020, y aún en la actualidad, producto de un acercamiento económico entre Latinoamérica y Asia, pero principalmente por la permeabilidad de estos acercamientos, los cuales permitieron el establecimiento de grupos de crimen organizado donde la vida silvestre no estuvo exenta (Calderón, 2023). Esto es la clara muestra de que existe una cacería dirigida y un mercado ilegal en crecimiento que muchas veces es justificado por el conflicto humano – vida silvestre y por el laxo cumplimiento de las leyes y tratados internacionales que están protegiendo a estas especies, pero donde lamentablemente son los mismos pobladores locales, gobiernos locales y nacionales partes fundamentales de este delito (Calderón, 2023).

Actualmente, Los esfuerzos de conservación se basan en la creación y fortalecimiento de áreas protegidas y corredores biológicos, estrategias que involucran a diferentes países de su rango de distribución, ya que la mayoría de los países de su rango de distribución cuentan con planes de conservación, evaluación de las subpoblaciones e incentivando el valor ecológico y cultural a través de la educación ambiental (Quigley *et al.*, 2017). Sin embargo, la mayoría de estos esfuerzos por si solos no son capaces de llegar a las poblaciones rurales que conviven día a día con este felino, como es el caso del RNVSM Caño Negro, ya que ocurren todas las dinámicas descritas, pero no existe un estudio actual sobre el estado de conservación del Jaguar en Caño Negro. Por tanto, estos esfuerzos deben enlazarse a iniciativas locales, puntuales, a corto, mediano y largo plazo, diseñadas exclusivamente al contexto local, y así tener un mayor impacto en menor tiempo, lo que permitirá trabajar en la conservación de su hábitat y presas, a la vez que se desarrolla conocimiento sobre el Jaguar en Caño Negro.

## Refugio Nacional de Vida Silvestre Mixto Caño Negro

El Refugio Nacional de Vida Silvestre Mixto Caño Negro (RNVSMCN), protege uno de los humedales más importantes del norte de Costa Rica, ubicado en la cuenca baja del río Frío, está catalogado, desde 1991, como sitio Ramsar, humedal de importancia internacional, ya que es una zona biológicamente rica (SINAC, ACAHN, 2013).

Esta Área Silvestre Protegida (ASP), se localiza en el Cantón de Los Chiles y el Distrito Buena Vista del Cantón de Guatuso, en la provincia de Alajuela (10°48'12"N; 84°42'30"W) (Figura 1). Pertenece al Área de Conservación Arenal-Huetar Norte (ACA-HN). Se clasifica como Refugio de Propiedad Mixta, porque posee terrenos del Estado (40%) y privados (60%). La categoría de manejo establecida para esta ASP permite preservar, conservar y manejar el hábitat, la flora y la fauna silvestre (SINAC, ACAHN, 2013).

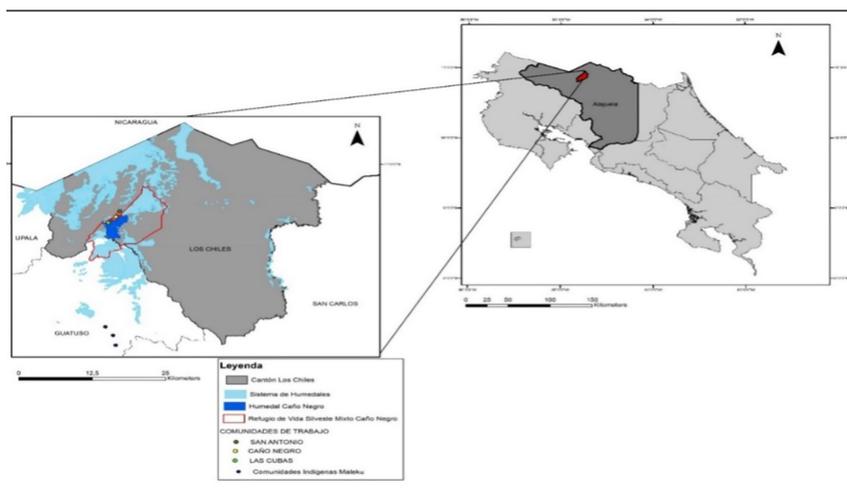


Figura 1. Área de estudio, Refugio Nacional de Vida Silvestre Mixto Caño Negro y comunidades de influencia. Fuente: Elaboración propia.

El RNVSMCN presenta una gran variedad de ecosistemas en comparación al tamaño, siendo una de las Áreas Silvestres Protegidas (ASP), más pequeñas del Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC). Corrales en SINAC/PNUD (2018) describe los 10 ecosistemas reconocidos en campo en el RNVSM Caño Negro, región donde el grado de humedad y temporalidad en el suelo es el factor determinante en la definición de los tipos de ecosistemas (Figura 2 y 3). Los dos ecosistemas más dominantes son (1) Humedal arbustivo-herbáceo, dominado por vegetación mixta palustrina y (2) Yolilal ralo mixto, dominado por vegetación arbustiva-herbácea palustrina. Por otro lado, el ecosistema menos abundante, pero a la vez muy importante

por su limitada distribución en el país, es el Humedal de *Acoelorrhaphes wrightii*, (palma Cuba), asociado con vegetación herbácea hidromórfica lacustrina (SINAC/PNUD, 2018).

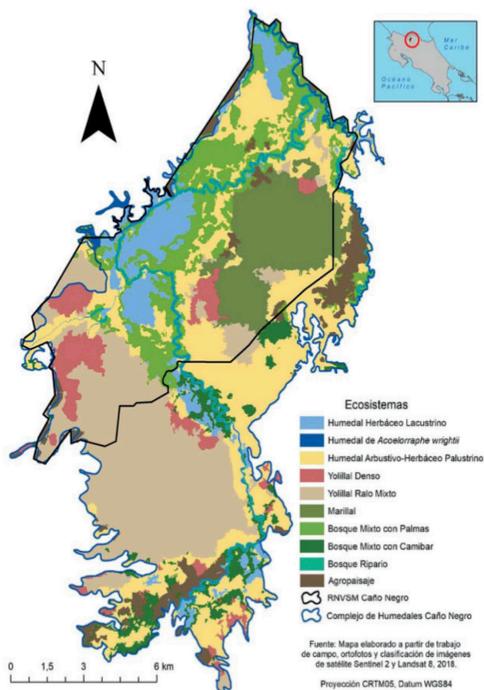


Figura 2. Distribución de Ecosistemas del Complejo de Humedales de Caño Negro. Fuente: SINAC/PNUD, 2018.



**Figura 3. Imágenes del RNVSMCN.  
Fotografía Renato Paniagua R.**

Existen amenazas a la integridad ecológica del Refugio, las cuales lamentablemente se encuentran en aumento. Los sistemas extensivos de ganadería provocan el drenaje de humedales y deforestación para expandir las áreas de pastoreo, dicha actividad es ilegal, por tanto, parte de la actividad ganadera dentro del humedal se da sin control. Por otra parte, la expansión de monocultivos, sobre todo el cultivo de piña, en los alrededores del Refugio crea un efecto de aislamiento y efecto de borde en los diferentes ecosistemas (Figura 4).



**Figura 4. Algunas amenazas que presenta el RNVSM Caño Negro. Expansión agrícola, ganadería extensiva, sedimentación de los cuerpos de agua.  
Fotografía Asprogosarena.**

## El Jaguar en el contexto mixto del Refugio Nacional de Vida Silvestre Caño Negro

La presencia del jaguar en Caño Negro es ampliamente reconocida y este mamífero es protagonista de muchas historias locales entre los habitantes que viven dentro o en los alrededores del RNVSMCN.

Dentro del contexto nacional el humedal de Caño Negro parece ser un punto de paso e intercambio natural de individuos entre las poblaciones del norte del Caribe y del Pacífico. La figura 5, muestra de manera representativa las poblaciones del norte del Caribe y del Pacífico, así como el RNVSM Caño Negro como un punto intermedio, sin barreras físicas para un jaguar. Hace falta comparar los individuos en Caño Negro, con los reportados en el Caribe, en el Pacífico, e incluso con los reportados en Nicaragua, en la Reserva Indio Maíz, para evaluar el rol que cumple el Humedal de Caño Negro para el Jaguar.

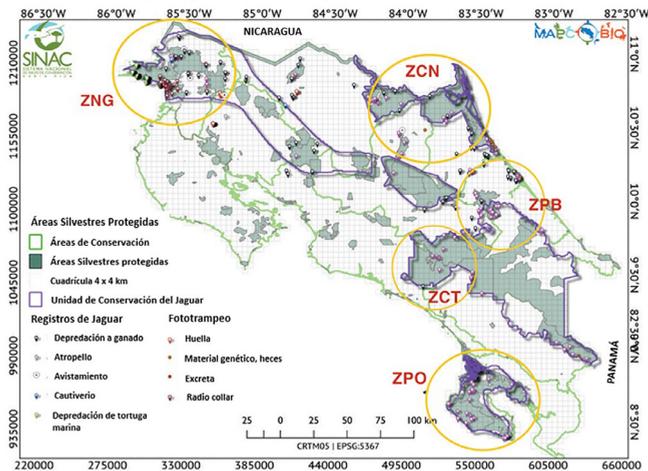


Figura 5. Registros de jaguar (*Panthera onca*) en Costa Rica. Fuente: Proyecto MAPCOBIO – SINAC 2013 – 2018. ZNG: Zona Norte Guacaste, ZCN: Zona Caribe Norte, ZPO: Zona Península de Osa, ZCT: Zona Cordillera de Talamanca, ZPB: Zona Parque Nacional Barquilla. RNVSM CN: Refugio Nacional de Vida Silvestre Mixto Caño Negro.

Conocemos muy poco sobre la dinámica del jaguar en un ecosistema tan prospero. Sin embargo, se convive con este felino en cada estación climática. Tanto los reportes de avistamientos, como de ataques a ganado (vacuno, porcino y bovino) se incrementan en la estación seca (enero a abril), mientras que en la estación lluviosa (el resto del año), los reportes en el Refugio bajan y la presión por casos de depredación pasa a los finqueros que se ubican a los bordes del Refugio.

Los avistamientos son reportados por personas que viven dentro del Refugio, personas locales que van a pescar, o durante alguna actividad turística. Además, hay reportes de huellas en lugares específicos a lo largo del río que se repiten en cada estación seca, esto brindan cierta información sobre puntos importantes a monitorear y ciertos patrones de movimiento que puede presentar a lo largo del año (Figura 6).

En cuanto a los ataques reportados dentro del RNVSMCN ocurren generalmente durante la noche, algunos son evidenciados por los restos del animal encontrado (Figura 6), y otros son atribuidos al jaguar por el hecho de que el animal desapareció según comentarios personales. Sin embargo, existe una cantidad indefinida de ataques no reportados, ya que son expuestos de manera anecdótica pero no existe un reporte oficial a la administración del área protegida u otras organizaciones, ya sea por falta conocimiento o porque piensan que no tendrán ninguna respuesta (comentarios personales durante las visitas a las fincas).



Figura 6. Algunos de los reportes de presencia del jaguar en el RNVSMCN, avistamiento, rastros o ataques a ganado.

Fotografía Archivo ProJaguar

Entre los esfuerzos de conservación dirigidos al jaguar en Caño Negro, podemos mencionar algunas gestiones por parte de SINAC y apoyos de la organización Panthera. Además, un estudio de Guerrero (2016), que analizó a detalle el conflicto humano - felinos mayores, y proporcionó un diagnóstico de las características propias de cada finca y contribuye a entender el comportamiento del jaguar a nivel de paisaje dentro del Refugio.

Este estudio reveló otros aspectos muy importantes a considerar dentro el contexto mixto de Caño Negro. Por ejemplo, las fincas con mayor riesgo forman parte de un corredor biológico y están definidas por su relación con el agua (Figura 7).

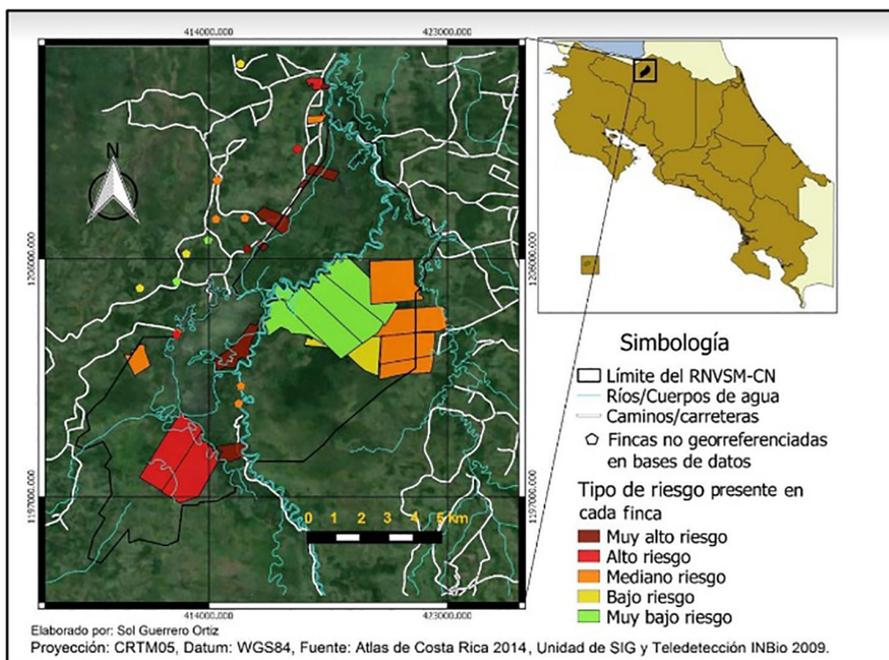


Figura 7. Tipo de riesgo de ataque de jaguar presente en cada finca analizada. Fotografía Guerrero, 2016.

Otra particularidad interesante que presenta el jaguar en el humedal es su rol como especie clave en la cadena trófica y, por ende, en la estructura de la comunidad biológica, ya que incluye presas muy características de la zona como, caimanes, tortugas de río, iguanas, pez gaspar y tilapia (especie introducida) (Guerrero, 2016; Wainwright, 2007).

## Iniciativa Projaguar Caño Negro

En la estación seca del 2021, los reportes de ataque de jaguar a ganado tuvo un aumento inusual y la respuesta de las instituciones pertinentes no fueron suficientes, y ante el riesgo de seguir perdiendo más animales domésticos y la posibilidad de que la solución sea cazar los jaguares, un grupo de personas de la comunidad de Caño Negro, se organizaron y conformaron Projaguar Caño Negro, esta iniciativa comunal surge para reducir la presión

de caza del jaguar ante los constantes conflictos entre los ganaderos y jaguares presentes en el RNCVSMCN (Figura 8).



Figura 8. Logotipo diseñado para representar a la iniciativa.

Los objetivos son los siguientes:

- Tomar acciones en conjunto con la comunidad local, buscando que gestionen sus propias soluciones, “De Caño Negro para Caño Negro”.
- Gestionar respuestas efectivas y eficaces ante la constante pérdida de hábitat, pérdida de presas y presión de cacería sobre el jaguar, poca atención institucional.
- Cambiar la imagen del jaguar en Caño Negro, que la presencia de este felino no represente una amenaza, sino un factor positivo y motivo de orgullo para nuestra comunidad.
- Promover una convivencia amigable, responsable y sostenible con el Jaguar, su hábitat y presas naturales en el RNVSMCN.

Desde entonces se han gestionado algunas acciones que ayudan a acercarse a los objetivos (Figura 9), sin embargo, por el corto tiempo que se tiene, las

acciones aún son exploratorias. Esta etapa del proyecto es muy importante, ya que permitirá enmarcar bien la situación y comprender la realidad de las personas que conviven con el jaguar de cerca.

Hasta el momento, lo realizado es lo siguiente:

- Elaboración de la base de datos de ataques reportados, la mayoría de los reportes se obtuvieron por la confianza entre los pobladores locales, no llegaron a los guardaparques.
- Elaboración de la base de datos de avistamientos, se reunieron evidencias como fotografías, videos, comentarios personales, igualmente basado en la confianza. Un aspecto interesante es la importancia que los avistamientos de jaguar comenzaron a tomar en el rubro del turismo.
- Se elaboró un rol de visitas a las fincas que reportaron ataques y se gestionó atención con otras organizaciones para buscar soluciones.
- Monitoreo con cámaras trampa 3 meses, noviembre 2022 a enero 2023, se registraron 24 especies silvestres – 14 potenciales presas para jaguar + animales domésticos. Además, se registraron individuos de jaguar en 3 diferentes sectores del Refugio.
- Acciones de educación ambiental, el jaguar siempre es una figura clave en los talleres de educación ambiental que se dan en la zona, ya que también refiere a un símbolo de fuerza y misterio.



Figura 9. Acciones realizadas en el marco del programa ProJaguar Caño Negro. A: Recepción de reportes de ataques bajo compromisos de la confidencialidad. B: Creación de un archivo de reportes de avistamiento de Jaguar realizado por los pobladores locales. C: Visita e instalación de cámaras trampa en las fincas que presentan más conflictos. D: Capacitación a personas locales sobre el monitoreo con cámaras trampa.

A pesar de ser una iniciativa reciente se han logrado visualizar varias problemáticas y se han logrado acercamientos importantes con los finqueros. Es muy importante tener constancia en las acciones y buscar alianzas con las empresas privadas, instituciones públicas y ONGs que impulsen nuevas actividades, colaboraciones y capacitaciones que fortalezcan nuestra capacidad organizativa como comunidad y continuar en la búsqueda de una convivencia amigable y respetuosa con el ambiente que nos rodea.

Es importante resaltar algunos aspectos relacionados a las nuevas tendencias en acciones de conservación. Sin duda, la primera gran oportunidad se presenta en la figura de Refugios de Vida Silvestre Mixtos (dentro del área protegida la presencia de propiedad privada y pública) esto permite un involucramiento inmediato de la población local que hace uso, en buena o mala medida, de los recursos naturales, y por ende se cuenta con una apropiación y un conocimiento local elevado.

Otro aspecto clave es que el surgimiento de la iniciativa fue local, fue un proceso endógeno, lo que le brinda una mayor estabilidad y coherencia ya que responde a una necesidad sentida en la población, por un lado, los finqueros perdiendo recursos económicos y por otro un grupo de personas, identificadas con la conservación del humedal y sus recursos.

Los procesos endógenos tienden a ser más lentos, tienen la necesidad de reinventarse constantemente, pero a largo plazo son los procesos que tienen un impacto permanente.

## Proyecciones a futuro

Entre las proyecciones se encuentra continuar fortaleciendo los vínculos de confianza entre las personas locales para que la información de ataques y avistamientos que se recaba se apegue lo más posible a la realidad del Refugio.

Por tanto, se seguirá impulsando esta iniciativa bajo los siguientes principios:

- Ser un proceso endógeno a largo plazo que involucre a varias generaciones y a diferentes sectores de la población.
- Buscar soluciones locales y acordes a la realidad (intercambios de experiencias).
- Incentivar que las personas tomen decisiones responsables con respecto a los bosques y la vida silvestre (informar, motivar, apoyar).
- Atender las prioridades de la comunidad y no de cualquier interés particular.

- Mantener los procesos basados en confianza, respeto y tolerancia.
- Pensar en una conservación asertiva – creando vínculos alrededor de algo en común, en este caso, el jaguar.

## Conclusiones

Al ser una iniciativa tan joven hay mucho camino por recorrer y muchas lecciones aprendidas. Parte de las conclusiones que se pueden mencionar en esta etapa es que se debe consolidar de mejor manera la organización de la agrupación para facilitar las alianzas

Necesitamos entender por qué las personas toman una decisión y no otra para brindar alternativas de mejora de fincas y compensaciones por pérdidas, siempre y cuando se haya llevado un proceso adecuado para disminuir el riesgo de ataque.

Finalmente, es necesario evaluarnos y ajustar nuestras acciones continuamente.

Estamos ampliando la iniciativa para trabajar con niños, niñas y adolescentes locales para dar continuidad a los monitoreos con cámaras trampa, visita a la fincas y acciones de conservación de su hábitat y presas.

El ecoturismo está representando un aliado clave para una mayor apropiación de la gente local hacia el RNVSMCN y los jaguares.

## Bibliografía

Calderón Quiñónez, A. P. (2023). *Ecology and conservation of the jaguar (Panthera onca) in Central America* (Doctoral dissertation, Universität Potsdam).

De La Torre, J. A., González-Maya, J. F., Zarza, H., Ceballos, G., & Medellín, R. A. (2018). *The jaguar's spots are darker than they appear: assessing the global conservation status of the jaguar Panthera onca*. *Oryx*, 52(2), 300-315.

IPBES (2019): *Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services*. S. Díaz, J. Settele, E. S. Brondízio E.S., H. T. Ngo, M. Guèze, J. Agard, A. Arneth, P. Balvanera, K. A. Brauman, S. H. M.

Butchart, K. M. A. Chan, L. A. Garibaldi, K. Ichii, J. Liu, S. M. Subramanian, G. F. Midgley, P. Miloslavich, Z. Molnár, D. Obura, A. Pfaff, S. Polasky, A. Purvis, J. Razzaque, B. Reyers, R. Roy Chowdhury, Y. J. Shin, I. J. Visseren-Hamakers, K. J. Willis, and C. N. Zayas (eds.). IPBES secretariat, Bonn, Germany. 56 pages.

Guerrero, S. (2016). *Conflicto humano - felinos mayores y propuesta de acciones para su mitigación y prevención en el Refugio Nacional de Vida Silvestre Mixto Caño Negro, Costa Rica*. Tesis para optar al grado de Maestría. UNA, Costa Rica. 90 pp.

Obombo, K. y Velarde, M. (2018). *Ecoturismo y conservación: Perspectivas y prácticas en las reservas de la biósfera de Los Tuxtlas, México y Maasai Mara, Kenia*. Dimensiones Turísticas, 2(2), 53-77. <https://doi.org/10.47557/PMQQ9256>

Proyecto Humedales de SINAC-PNUD-GEF (2018). *Ecosistemas Vegetales del Complejo de Humedales de Caño Negro, Los Chiles, Costa Rica*. SINAC, PNUD. Turrialba, Costa Rica. SINAC/PNUD. 48 pp.

Quigley, H., Foster, R., Petracca, L., Payan, E., Salom, R. & Harmsen, B. 2017. *Panthera onca* (errata version published in 2018). The IUCN Red List of Threatened Species 2017.

Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC). 2018. *Estado de conservación del jaguar (Panthera onca) en Costa Rica a través de la integración de datos de registros de la especie y modelaje del hábitat idóneo*. Proyecto MAPCOBIO-SINAC-JICA-Santo Domingo de Heredia, Costa Rica.

Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC), *Área de Conservación Arenal-Huetar Norte (ACAHN)*. (2013). *Refugio Nacional de Vida Silvestre Mixto Caño Negro, Alajuela, Costa Rica: Plan de Manejo 2012-2020*. (2 Ed mejorada). Alajuela, Costa Rica. 111 p.

UNESCO. 2024. *Ciencia ciudadana en América Latina: perspectivas y políticas públicas*. Oficina Regional de UNESCO en Montevideo. 17 pp.

Wainwright, M. (2007). *The Mammals of Costa Rica*. Zona Tropical Publication, 348 – 354.



**Capítulo 7**  
Vulnerabilidad de los murciélagos  
endémicos mexicanos al cambio  
climático: una revisión  
y recomendaciones  
para su conservación

Luz María Sil Berra  
María de Lourdes Romero Almaraz  
Cristian Cornejo Latorre



## Introducción

El cambio climático se ha convertido en una de las mayores amenazas para la biodiversidad global porque afecta de manera importante a los ecosistemas y como consecuencia a numerosas especies en todo el mundo (IPCC, 2023). Los murciélagos (orden Chiroptera) están en riesgo debido a su sensibilidad a los cambios en los patrones climáticos, como el aumento de la temperatura, modificaciones en el régimen de precipitación y una mayor intensidad y frecuencia de eventos extremos, como son las olas de calor, sequías, incendios forestales y huracanes (Kunz *et al.*, 2011; Voigt y Kingston, 2016; Ramírez-Fráncel *et al.*, 2022; Festa *et al.*, 2023). Particularmente, las especies endémicas enfrentan mayores desafíos debido a que tienen adaptaciones específicas a ecosistemas particulares (Frick *et al.*, 2020). En este capítulo, examinamos cómo el cambio climático impacta a los murciélagos endémicos, centrándonos en el caso de México.

El propósito general de este trabajo es examinar qué factores les permiten a los murciélagos endémicos enfrentar las amenazas al cambio climático y proporcionar recomendaciones fundamentadas para su conservación. Los objetivos particulares que guían este análisis son: 1) Identificar características en los murciélagos que aumentan su vulnerabilidad al cambio climático; 2) Evaluar la presencia de estas características en las especies endémicas de México; 3) Proponer una escala de vulnerabilidad adaptada a los murciélagos endémicos; y 4) Formular recomendaciones concretas para la protección de las especies endémicas más vulnerables.

## Murciélagos endémicos: diversidad y distribución

Se define como endémicos a aquellos taxa nativos que están restringidos a unidades geográficas o áreas específicas como consecuencia de factores tanto históricos como ecológicos (Morrone, 2008). El término es relativo de acuerdo con la escala espacial o el nivel taxonómico, por ejemplo, se puede hacer referencia a especies endémicas de América, de México o de Veracruz, o bien, de familias, géneros o especies. En términos de biodiversidad, las especies endémicas son relevantes porque si se extinguen, lo hacen a una escala global, por lo tanto, la endemidad puede ayudar a determinar las prioridades para la conservación de la biota (Morrone, 2008). El estudio de

los murciélagos es fundamental por las funciones ecológicas que desempeñan en los ecosistemas y porque su declive tendría efectos en cascada sobre la biodiversidad, el funcionamiento de los ecosistemas y el bienestar humano (Kunz et al., 2011).

Una distribución geográfica restringida les confiere a ciertas especies de murciélagos un mayor riesgo de extinción y deberían ser prioritarias para la conservación, especialmente cuando existe un efecto combinado de varios factores como la transformación del hábitat, la caza, las perturbaciones y la presencia de especies invasoras. Ante este escenario, se han reportado extinciones de poblaciones completas, principalmente en islas, como la del murciélago *Pipistrellus murrayi* que habitaba en la isla de Navidad, Australia, y se declaró extinto globalmente en 2017 (Frick et al., 2020). En la isla de Cerdeña, Italia, se encuentra el murciélago de orejas largas, *Plecotus sardus*, que se descubrió en 2002. Sin embargo, datos demográficos obtenidos durante dos décadas indican una disminución poblacional significativa, debido a incendios recurrentes y condiciones climáticas extremas relacionadas con el cambio climático, que podrían haberlo llevado hacia la extinción (Ancillotto et al., 2021).

Los murciélagos, por su alta capacidad de dispersión, presentan menos endemismos en comparación con otros grupos de mamíferos, como los roedores. En México habitan alrededor de 144 especies de murciélagos, de las cuales 19 son endémicas (13%); y a nivel de géneros, uno es endémico de México (*Musonycteris*; Ramírez-Pulido et al., 2005; Sil-Berra et al., 2022a). En contraste con los roedores, el grupo de mamíferos más diverso, con 235 especies, 120 endémicas (49%; Figura 1) y ocho géneros endémicos en el país (Ramírez-Pulido et al., 2005). No obstante, se han identificado centros de endemismo de murciélagos a distintas escalas espaciales. Las áreas de endemismo se definen por la superposición de dos o más taxones y reflejan un componente biótico ancestral (Morrone, 1994, 2008). Por ejemplo, las selvas tropicales de América Central y la costa del Pacífico Sur de América albergan un nivel significativamente alto de endemismos. En México, las áreas con los mayores niveles de endemismos de murciélagos son la Península de Yucatán y el desierto peninsular de Baja California; además existen otras áreas con niveles de endemismo alto en la categoría de familias del orden (López-Aguirre et al., 2018).

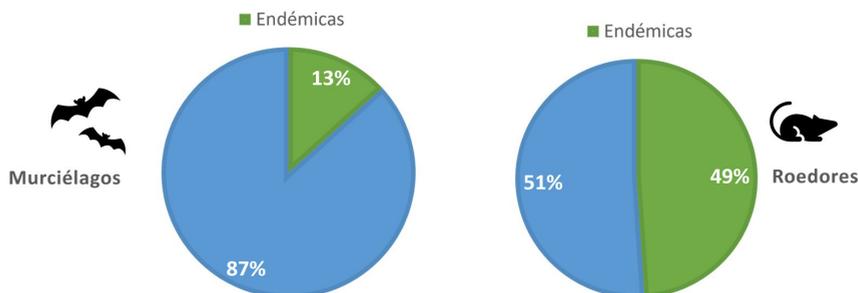


Figura 1. Comparación entre el porcentaje de especies endémicas de murciélagos (19 de 144) y roedores (115 especies de 235) en México.

De las 19 especies endémicas de México, 12 pertenecen a la familia Vespertilionidae y cinco a Phyllostomidae. Estas especies presentan una gran diversidad ecológica (Tabla 1), así como distintas áreas de distribución (Figura 2). Algunas tienen requerimientos de hábitat o dieta muy específicos; mientras que otras son de hábitos más generalistas. Lo que sugiere una afectación diferencial ante los estresores ambientales, incluyendo el cambio climático y, por lo tanto, estrategias de conservación específicas.

**Tabla 1. Listado taxonómico de especies de murciélagos endémicas en México y características ecológicas.**

Familia/especie	Dieta	Refugios	Reproducción
Mormoopidae <i>Pteronotus mexicanus</i>	Insectívora	Cuevas y minas	Monoestro
Phyllostomidae			
Phyllostomidae <i>Glossophaga morenoi</i>	Nectarívora	Cuevas, oquedades de árboles, alcantarillas y construcciones humanas.	Poliestro bimodal
<i>Musonycteris harrisoni</i>	Nectarívora	Cuevas, minas y alcantarillas	Poliestro bimodal
<i>Artibeus hirsutus</i>	Frugívora	Minas abandonadas, cuevas pequeñas, debajo de rocas y edificios abandonados.	Poliestro bimodal
<i>Chiroderma scopaeum</i>	Frugívora	Hojas grandes y oquedades de los árboles.	Poliestro bimodal
<i>Vampyressa villai</i>	Frugívora	Follaje y hojas grandes de los árboles.	Poliestro bimodal?
Vespertilionidae <i>Corynorhinus mexicanus</i>	Insectívora	Minas, túneles, cuevas y construcciones.	Monoestro
<i>Corynorhinus leonpaniaguae</i>	Insectívora	Minas, túneles, cuevas y construcciones.	Monoestro?
<i>Myotis findleyi</i>	Insectívora	Oquedades de árboles cercanos a cuerpos de agua.	Monoestro
<i>Myotis peninsularis</i>	Insectívora	Cuevas, alcantarillas y techos de palma.	Monoestro
<i>Myotis planiceps</i>	Insectívora	Oquedades de árboles y colinas. Hojas de yucas.	Monoestro?

<b>Familia/especie</b>	<b>Dieta</b>	<b>Refugios</b>	<b>Reproducción</b>
<i>Myotis vivesi</i>	Piscívora	Rocas, acantilados en bahías y grietas.	Monoestro
<i>Rhogeessa alleni</i>	Insectívora	Oquedades de árboles, cuevas y construcciones abandonadas.	Monoestro?
<i>Rhogeessa genowaysi</i>	Insectívora	Oquedades de árboles	Monoestro?
<i>Rhogeessa tumida</i>	Insectívora	Ramas cercanas a cuerpos de agua	Monoestro?
<i>Rhogeessa gracilis</i>	Insectívora	Oquedades de árboles	Monoestro?
<i>Rhogeessa mira</i>	Insectívora		Monoestro?
<i>Rhogeessa parvula</i>	Insectívora	Oquedades y grietas entre rocas, cuevas, árboles y hojas de palma	Poliestro bimodal
Molossidae <i>Cynomops mexicanus</i>	Insectívora	Oquedades de árboles, cuevas, ruinas y casas	Monoestro

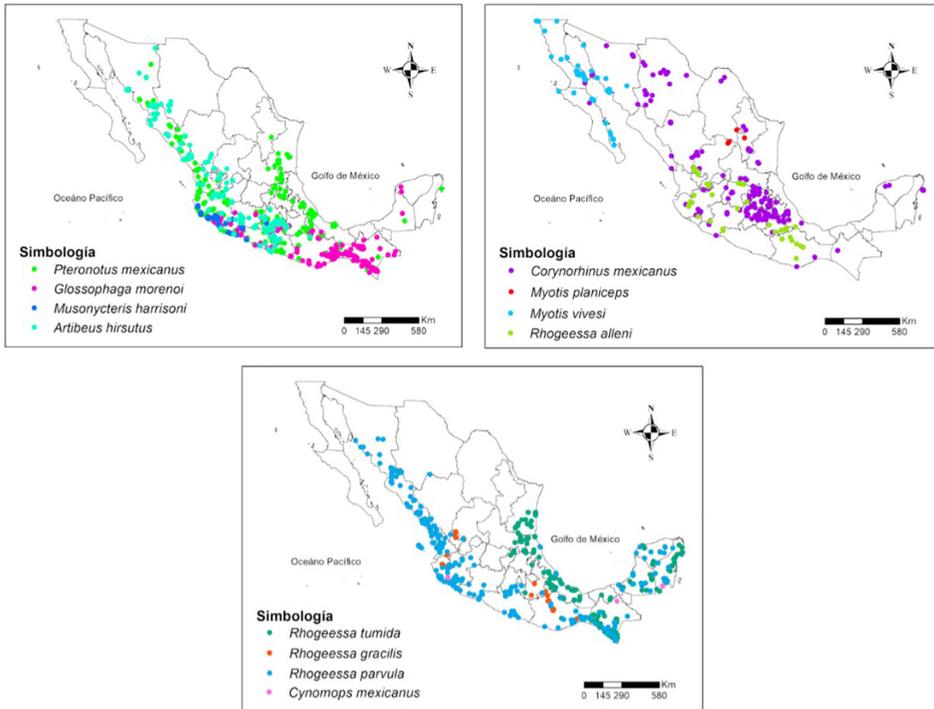


Figura 2. Registros para las especies de murciélagos endémicas de México. Datos tomados de la CONABIO. Fecha de consulta: 19 de noviembre de 2021. No se incluye a *C. scopaeum*, *M. findleyi*, *M. peninsularis*, *R. genowaysi*, *R. mira*, debido a la insuficiencia de datos, ni a *Vampyressa villai* ni *C. mexicanus* porque fueron descritas recientemente (Garbino et al., 2024; López-Cuamatzi et al., 2024) y se requiere una revisión y actualización de las bases de datos. Modificado de Sil-Berra et al. (2022a).

## Cambio climático y su impacto sobre los murciélagos endémicos

El cambio climático está impactando a todas las especies a diferentes niveles y a través de varios procesos como el calentamiento global, cambios en el régimen de precipitaciones, aumento en el nivel del mar, acidificación de océanos, cambios en la frecuencia e intensidad de perturbaciones na-

turales y otros eventos climáticos adversos como sequías y huracanes, por ejemplo, la temperatura ambiental global ha aumentado progresivamente, desde principios de 1800, hasta alcanzar 1.1°C más en las décadas de 2011–2020 (IPCC, 2023). Proyecciones recientes indican que al final del siglo XXI, la temperatura habrá aumentado entre 1.4–4.4°C, dependiendo de las acciones que se tomen (IPCC, 2023) e impactará sobre distintos aspectos biológicos, ecológicos, económicos y sociales; además de afectar de manera particular la pérdida de la biodiversidad.

En México, los escenarios climáticos sugieren tendencias alarmantes, con incrementos en la temperatura y alteraciones en los patrones de precipitación. Se ha registrado un aumento de la temperatura media del país entre 1901–2012, de 0.5–1.0°C, siendo más acentuado en el norte. Las proyecciones del cambio climático, considerando un escenario caracterizado por emisiones muy elevadas, indican un aumento de la temperatura entre 3.9 a 5.7°C en un futuro remoto, de acuerdo con los resultados de cuatro modelos de circulación global. Con respecto a la precipitación, los escenarios de cambio climático indican un ligero aumento en ciertas regiones, aunque en general se visualiza una disminución. Para el peor escenario, se proyecta una reducción promedio de la precipitación que oscila entre -3.4 a -17.1% (INECC, 2021).

La vulnerabilidad (predisposición a ser afectado adversamente por el cambio climático) está determinada por factores intrínsecos y extrínsecos y presenta tres componentes principales: exposición, sensibilidad, y adaptabilidad (Figura 3a). La exposición se refiere al tipo, magnitud y tasa de cambios experimentados por una especie. La sensibilidad es el grado en el que una especie, hábitat o ecosistema es afectado o responde a los cambios; depende de características fisiológicas, de comportamiento y de historia de vida. Mientras que la capacidad adaptativa se define como el grado en el que una especie, hábitat o ecosistema es capaz de reducir los efectos adversos del cambio climático a través de la dispersión y colonización de áreas climáticamente más adecuadas, respuestas ecológicas plásticas o respuestas evolutivas (Foden y Young, 2016).

La vulnerabilidad al cambio climático se ha evaluado mediante diferentes métodos, que se han agrupado en tres categorías: 1) Correlativos:

principalmente modelos de distribución o basados en nicho, en donde la vulnerabilidad se evalúa por los cambios en el tamaño, ubicación y grado de fragmentación del área de distribución; 2) Basados en rasgos: toman en cuenta características biológicas de las especies para estimar su sensibilidad y capacidad de adaptación al cambio climático y se utilizan más ampliamente para informar la priorización de especies para las intervenciones de conservación; y 3) Mecanicistas o basados en procesos: permiten predecir las respuestas probables de las especies a las condiciones ambientales cambiantes mediante la incorporación explícita de procesos, generalmente utilizan estimaciones de tolerancias fisiológicas de las especies a partir de observaciones de laboratorio y de campo (Foden *et al.*, 2016; Figura 3b).

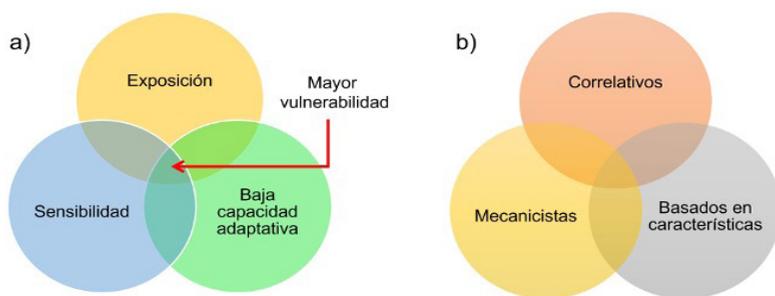


Figura 3. a) Principales componentes de la vulnerabilidad al cambio climático.  
b) Principales métodos empleados para la evaluación de la vulnerabilidad al cambio climático. Tomado de Foden y Young (2016).

Entre los métodos más comunes está la evaluación de los cambios en la distribución de las especies mediante métodos de nicho ecológico, en donde en ocasiones, se incorpora la capacidad de dispersión de las especies. Otro método es la evaluación de cambios poblacionales en un contexto espacial. La probabilidad de extinción es otro método que combina análisis de viabilidad poblacional con características de historias de vida. Mientras que los índices de vulnerabilidad integran datos cuantitativos basados en las características biológicas y ecológicas de las especies. En la actualidad, se han propuesto combinaciones de diferentes métodos para evaluar la vulnerabilidad de las especies ante el cambio climático, porque cada uno ofrece

resultados distintos (Foden y Young, 2016), además de que estos estudios presentan sesgos taxonómicos y geográficos. De acuerdo con Pacifici et al. (2015), las aves, los mamíferos y las plantas son los grupos con el mayor número de estudios a nivel regional y se han realizado principalmente en países desarrollados.

Se han identificado taxa y regiones más vulnerables que otros. Por ejemplo, las especies de invertebrados y peces marinos parecen ser más vulnerables debido a su alta dependencia térmica (Sunday et al., 2012). Una de las respuestas de la biodiversidad ante el cambio climático es la expansión (vía dispersión) o contracción del área de distribución geográfica de acuerdo con los requerimientos biológicos de los organismos (Parmesan, 2006). En este sentido, el tamaño del área de distribución suele ser un predictor adecuado del estado de conservación. Es decir, las especies con áreas de distribución amplias suelen ser menos vulnerables al tener mayores opciones para encontrar refugios y hábitats adecuados (Lucas et al., 2019) en comparación con aquellos taxones con distribuciones restringidas (Catford et al., 2012; Manes et al., 2021). Aunado con los predictores de conservación basados en el tamaño de las áreas de distribución, es importante considerar otros rasgos biológicos tales como la especialización ecológica, las capacidades de dispersión, el tamaño poblacional reducidos y capacidad adaptativa de los organismos (Manes et al., 2021).

En los últimos años, ha aumentado la investigación sobre el impacto del cambio climático en los murciélagos. Sin embargo, la mayoría de estos estudios se han centrado en los bosques templados de Norteamérica y han utilizado principalmente enfoques correlativos (Festa et al., 2023). Las manifestaciones del cambio climático tienen un impacto directo en los murciélagos al alterar los hábitats y recursos necesarios para su supervivencia porque afectan su tasa de mortalidad, distribución, comportamiento reproductivo, patrones migratorios y disponibilidad de alimento (Frick et al., 2020; Festa et al., 2023). Además de los efectos directos, el cambio climático también genera impactos indirectos al modificar factores bióticos y abióticos con los que interactúan los murciélagos, como cambios en la presencia de depredadores naturales o el surgimiento de nuevas dinámicas, como la competencia entre especies o interacciones con patógenos que se benefician de estos cambios (Festa et al., 2023).

En una evaluación sobre los efectos combinados del cambio climático y de uso de suelo en 130 especies de murciélagos de México, Zamora-Gutiérrez et al. (2018), mediante modelos de distribución de especies encontraron que alrededor de 50% de las especies totales perderán idoneidad ambiental en su área de distribución, de estas 11 perderán más del 85% de su área (*Corynorhinus townsendii*, *Eptesicus brasiliensis*, *Idionycteris phyllotis*, *Lasiurus cinereus*, *Lasiurus borealis*, *Myotis evotis*, *Myotis keaysi*, *Myotis melanorhinus*, *Myotis thysanodes*, *Tonatia saurophila* y *Vampyrum spectrum*). Se incluyeron a 11 de las especies endémicas del país, de las cuales, *Corynorhinus mexicanus* perderá más de 80% y *Rhogeessa alleni*, más de 60% de idoneidad ambiental; y el resto perderá alrededor de 40%, con excepción de *Myotis vivesi* (20%; Figura 4a). Asimismo, las regiones que tendrán la mayor número de especies perdedoras de idoneidad son la Península de Yucatán, los bosques tropicales secos de la vertiente del Pacífico, los bosques secos subtropicales de transición Sonora-Sinaloense, el desierto de Sonora, el desierto de la península de Baja California, los matorrales xerófilos de las islas del Golfo de California, la parte norte de los bosques húmedos de Veracruz y los bosques secos del Balsas (Zamora-Gutiérrez et al., 2018).

En otro estudio, se consideraron 462 especies de mamíferos de México y se registró el rango de sensibilidad basada en características como la distribución, la categoría de riesgo en la IUCN, el endemismo, la tendencia poblacional, la especialización en la dieta y la capacidad de dispersión. En este análisis se incluyeron 15 especies de murciélagos endémicos, de las cuales *M. vivesi* y *Musonycteris harrisoni* resultaron ser más vulnerables (Ureta et al., 2022; Figura 4b).

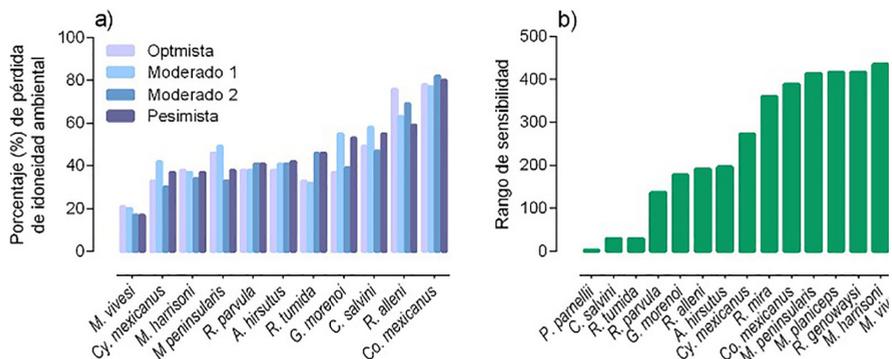


Figura 4. a) Especies endémicas más afectadas por el cambio climático y el cambio de uso de suelo en cuatro escenarios futuros. Elaboración propia, a partir de datos de Zamora-Gutiérrez et al. (2018). b) Especies endémicas más sensibles al cambio climático. Elaboración propia, a partir de datos de Ureta et al. (2022).

## Factores que inciden en la vulnerabilidad ante el cambio climático

Los murciélagos endémicos son particularmente sensibles a los cambios en su entorno debido a que tienen áreas de distribución más restringidas y en algunos casos a su especialización ecológica y su estrecha relación con hábitats específicos. Por lo tanto, resulta crucial analizar los factores que influyen en su vulnerabilidad. Esta comprensión nos brinda información valiosa para promover su protección ante el cambio climático. A continuación, se enlistan algunos de estos factores.

**Grupo taxonómico.** Los mamíferos son especialmente vulnerables al cambio climático debido a la dependencia de los patrones de reproducción e hibernación al fotoperiodo (Bronson, 2009). Por ejemplo, en la región de los Apalaches, Estados Unidos de América, entre el 22–44% de la riqueza de mamíferos podrían perder más de la mitad de su distribución actual para el 2040; mientras que sólo entre 1–3% de las especies de aves y 10–12% de los reptiles podría reducir su área de distribución a más de la mitad (Zhu et al., 2022). Específicamente, los murciélagos son altamente sensibles al cambio

climático porque son propensos a la deshidratación debido a la alta relación superficie-volumen causada por su masa corporal generalmente pequeña y sus membranas alares grandes (Korine *et al.*, 2016).

*Dieta.* En mamíferos, la alta dependencia de los herbívoros a la fenología de las plantas y disponibilidad de los recursos florales puede representar una mayor vulnerabilidad ante el cambio climático (Bertheaux *et al.*, 2006). Por otra parte, si el cambio climático aumenta la frecuencia e intensidad de las perturbaciones naturales como los huracanes, los murciélagos frugívoros y nectarívoros suelen ser más afectados por estos eventos en comparación con los insectívoros (Sil-Berra *et al.*, 2021, 2022b).

Este patrón de vulnerabilidad también se observa en las especies endémicas de murciélagos de México, que tienen diversas dietas y, por lo tanto, diferentes niveles de susceptibilidad al cambio climático. Doce especies de murciélagos endémicas de México se alimentan principalmente de insectos (diez de la familia Vespertilionidae: *C. mexicanus*; tres especies del género *Myotis*, seis del género *Rhogeessa*; una de la familia Mormoopidae: *Pteronotus mexicanus*; y una de Molossidae: *Cynomops mexicanus*), una se alimenta de peces, crustáceos e insectos (*M. vivesi*; Vespertilionidae), y de la familia Phyllostomidae, dos se alimentan de frutos (*Chiroderma scopaeum* y *Artibeus hirsutus*) y dos consumen néctar y polen (*Glossophaga morenoi* y *Musonycteris harrisoni*). De acuerdo con la literatura mencionada previamente, las especies frugívoras y nectarívoras pueden ser más vulnerables al cambio climático, aunque es necesario considerar la amplitud de nicho trófico (Safi y Kerth, 2004).

*Área geográfica.* Con base en el tamaño del área de distribución es posible determinar qué especies son más vulnerables a experimentar un proceso acelerado de extinción (Sánchez-Cordero *et al.*, 2005). Por lo tanto, al emplear el área de distribución como una medida de vulnerabilidad es posible determinar grupos de taxones y áreas prioritarias para la conservación (Arita *et al.*, 1997). En mamíferos, se ha demostrado que aquellas especies con un área de distribución geográfica amplia son menos afectadas que aquellas con distribuciones más restringidas (Zhu *et al.*, 2022).

Algunas especies endémicas de México tienen distribuciones amplias, por ejemplo, *P. mexicanus*. Otras, en cambio, tienen áreas de distribución muy restringidas, tal es el caso de *Myotis planiceps*, que se encuentra en una

pequeña área entre los límites de los estados de Coahuila, Nuevo León y Zacatecas, o *Rhogeessa mira*, que se encuentra únicamente en la zona de El Infiernillo y Zicuirán, en Michoacán. Mientras que *Myotis findleyi* solo se encuentra en las islas Tres Marías y *Myotis vivesi* en islas adyacentes a la península de Baja California (Herrera et al., 2019). Las especies con distribuciones altamente restringidas son más vulnerables ante el cambio climático. Por lo tanto, el área de distribución es un proxy adecuado para documentar las expansiones o reducciones en la distribución de taxones, así como para evaluar los patrones de fragmentación y pérdida de hábitats y analizar sus efectos sobre la biología de las especies (cambios en sus requerimientos ecológicos, límites fisiológicos, e interacciones ecológicas; Frey, 2009; Hody y Kays, 2018). Sin embargo, ante la falta de datos precisos sobre la extensión real de las áreas de distribución, otro indicador puede ser el número de estados en el que están presentes, el cual está correlacionado con el área de distribución (Figura 5).

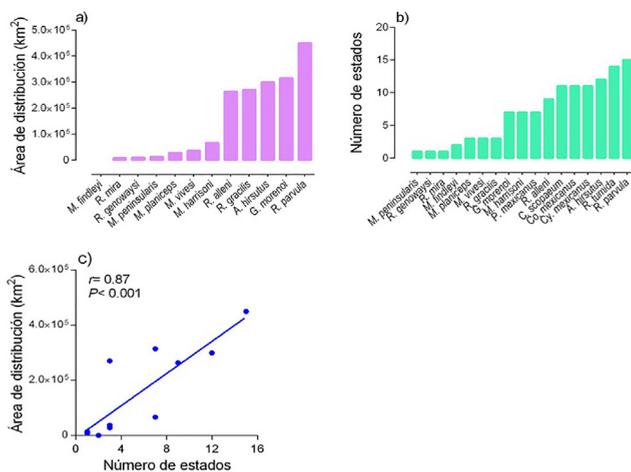


Figura 5. a) Áreas de distribución de las especies de murciélagos endémicas. Elaboración propia con datos de Jones et al. (2009), b) número de estados en los que están presentes, y c) correlación entre el área de distribución y el número de estados.

**Rareza.** Las especies endémicas pueden o no ser raras. Si las especies raras y/o endémicas presentan alguna de las siguientes características, pueden ser especialmente propensas a la extinción: (1) distribución geográfica estrecha (y única), (2) sólo una o unas pocas poblaciones, (3) tamaño de población pequeño y poca variabilidad genética, (4) sobreexplotación por parte de las personas, (5) tamaño poblacional en disminución, (6) bajo potencial reproductivo, (7) necesidad de nichos ecológicos especializados y (8) crecimiento que requiere ambientes estables (Işık, 2011).

Un indicador de una distribución geográfica estrecha y un tamaño de población pequeño es la baja abundancia de las especies a lo largo de su distribución. El número de registros en las plataformas digitales puede funcionar como subrogado de la abundancia de una especie. En el caso de los murciélagos endémicos de México, *P. mexicanus* cuenta con más de 3000 registros en el Sistema Global de Información sobre Biodiversidad (GBIF, 2024), mientras que otras especies como *M. planiceps*, *Rhogeessa genowaysi*, *M. findleyi* y *R. mira* tienen menos de 50 registros (Figura 6). Considerando esto, las especies con menos registros posiblemente son más raras y teóricamente más vulnerables. Sin embargo, es importante considerar otros aspectos como los sesgos en los métodos de colecta de las especies, así como la disparidad en los esfuerzos de muestro entre regiones.

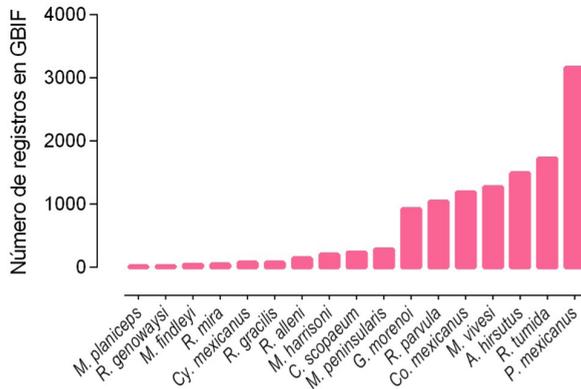


Figura 6. Número de registros de las especies endémicas en GBIF (2024).

*Historias de vida.* Se ha señalado que las historias de vida influyen en la vulnerabilidad al cambio climático a largo plazo, más que la distribución geográfica o la taxonomía. Las historias de vida lentas (reproducción lenta, pocas crías y vida larga) pueden aumentar la vulnerabilidad de las especies debido a que afectan el crecimiento de las poblaciones y disminuyen su capacidad de adaptarse a los cambios ambientales (Isaac, 2009; Mims et al., 2018). Contrariamente, también se ha sugerido que aquellos mamíferos que tienen vidas lentas son más resilientes al cambio climático porque pueden invertir más en pocas crías o esperar a que las condiciones mejoren para reproducirse (Jackson et al., 2022). O bien, que la vulnerabilidad de las especies relacionada con su estrategia de historia de vida depende del grado y rapidez en la que ocurren los cambios ambientales (Isaac, 2009). Los murciélagos, por su estrategia reproductiva lenta son más susceptibles a la extinción bajo cambios ambientales rápidos (O'Grady et al., 2004; Frick et al., 2020).

La mayoría de los murciélagos endémicos de México presentan un patrón reproductivo monoestro y tienen una o máximo dos crías por parto, lo que los posiciona en el extremo lento de las estrategias de historias de vida, sus periodos reproductivos suelen estar altamente sincronizados con los patrones de precipitación y abundancia de alimento. Mientras que *G. morenoi* y *A. hirsutus* se reproducen dos veces al año; lo que, en términos poblacionales, les confiere mayores oportunidades de enfrentar cambios ambientales rápidos.

*Tamaño corporal.* El tamaño corporal de los mamíferos está relacionado con aspectos ecológicos, tales como la longevidad, las estrategias reproductivas y capacidad de dispersión, entre otros (Newsome et al., 2020; Kuparinen et al., 2023). Por lo general, los mamíferos más grandes tienen mayor riesgo de extinción debido a sus necesidades de territorio y recursos. En contraste, las especies pequeñas generalmente se adaptan a entornos limitados y tienen tasas de reproducción más altas (Isaac, 2009; Ureta et al., 2022). Aunque esta tendencia varía entre los grupos biológicos, como se ha demostrado en roedores (Fourcade y Alhajeri, 2023). La regla de Bergmann (1847) sugiere que los organismos son más pequeños en lugares con temperaturas más altas, por lo que se podría esperar que el calentamiento climático resulte en una presión selectiva a largo plazo que propicie la disminución del tamaño o masa corporal, tal como se ha documentado en algunos taxones de

mamíferos y aves. Sin embargo, tendencias distintas han sido encontradas en diferentes vertebrados debido a que predecir los efectos de la disminución el tamaño corporal inducida por el clima es complejo (Isaac, 2009). En mamíferos, por ejemplo, la disponibilidad de recursos parece ser un factor más influyente en el tamaño corporal (Hantak et al., 2021). Los murciélagos, a pesar de su tamaño, presentan tasas reproductivas bajas y vidas largas, similares a mamíferos más grandes. Mientras que las especies de menor tamaño son menos resistentes a eventos climáticos extremos (Sil-Berra et al., 2021, 2022b).

En las especies de murciélagos endémicos mexicanos existe una amplia variación en los tamaños corporales. Por ejemplo, *R. mira*, la especie más pequeña en México y una de las más pequeñas a nivel mundial, pesa sólo 3 g y tiene una longitud corporal total de 38 mm. En contraste, *P. mexicanus* es una especie mediana con un peso de 10 a 20 g y una longitud corporal total de 73 a 102 mm. Entre las especies endémicas de talla mayor destaca *M. vivesi* con un peso de 25 g y una longitud corporal total de 140 a 145 mm. La tendencia global en murciélagos es que las especies con tamaños corporales pequeños exhiben áreas de distribución restringidas y se reproducen sólo una vez al año, lo que las hace más vulnerables al cambio climático.

*Capacidad de dispersión.* La vagilidad o capacidad de dispersión de los organismos determina que puedan aprovechar nuevas oportunidades y colonizar áreas nuevas en respuesta a cambios en el entorno. En este contexto, varios estudios han incorporado la capacidad de dispersión en sus predicciones sobre cómo podría cambiar la distribución de las especies en el futuro, comparando escenarios que consideran la falta de dispersión con otros que asumen una dispersión ilimitada (Pacifi et al., 2015). Por ejemplo, Schloss et al. (2012) sugieren que es probable que aproximadamente 87% de los mamíferos terrestres en el hemisferio occidental experimente una disminución en su rango de hábitat idóneo debido a las condiciones climáticas cambiantes. Dentro de estos mamíferos, aproximadamente 20% de las especies enfrentan una vulnerabilidad particular debido a su capacidad de dispersión limitada.

Un caso particular lo representan los murciélagos, cuyos patrones de dispersión varían significativamente entre especies. Algunas especies de

murciélagos recorren grandes distancias en busca de alimento cada noche, otras presentan movimientos estacionales cortos y alrededor de 3% realizan movimientos migratorios (movimientos estacionales de más de 50 km), principalmente de la familia Vespertilionidae (Bisson *et al.*, 2009). La información acerca de los movimientos que realizan los murciélagos endémicos es escasa. Se conoce por ejemplo que *M. vivesi* recorre una distancia promedio de 43 km cada noche en busca de alimento, aunque existe una gran variación entre individuos (Hurme *et al.*, 2019). En general, la capacidad de dispersión se ha asociado con la morfología alar (Luo *et al.*, 2019).

*Morfología alar.* La relación entre la forma y el tamaño de las alas de los murciélagos en proporción a su tamaño corporal está relacionada con el uso del hábitat. De manera general, los murciélagos con alas amplias y de longitud reducida tienden a forrajear cerca de la vegetación o incluso entre ella (baja carga alar y relación de aspecto). Este diseño de alas les confiere una maniobrabilidad óptima y les permite volar a baja velocidad. En contraste, los murciélagos con alas alargadas y estrechas (alta carga alar y relación de aspecto) prefieren los espacios abiertos para el forrajeo. Aunque esta morfología reduce su maniobrabilidad, les proporciona la capacidad de volar a altas velocidades (Marinello y Bernard, 2014; Castillo-Figueroa, 2020). Asimismo, las especies de murciélagos con mayor carga alar exhiben rangos de distribución más amplios que aquellas con menor carga alar y la relación de aspecto se asocia con el tamaño de la distribución geográfica (Luo *et al.*, 2019).

En general, las especies con una baja carga alar y relación de aspecto, características asociadas a alas más anchas y redondeadas, tienen un mayor riesgo de extinción (Jones *et al.*, 2003; Safi y Kerth, 2004; Furey y Racey, 2016). Esto se debe a que estas especies tienen ámbitos hogareños y áreas de distribución reducidas y son más dependientes de la vegetación. Los murciélagos con estas características enfrentan un mayor riesgo de extinción debido a su especialización en forrajear en hábitats cerrados, como bosques y vegetación ribereña, y sus capacidades migratorias y de dispersión limitadas (Jones *et al.*, 2003; Safi y Kerth, 2004). Entre estas especies se encuentran la mayoría de los filostómidos y algunos vespertiliónidos (Furey y Racey, 2016).

*Estado de conservación actual.* El estado de conservación de las especies se basa en información científica actualizada de grupos de especialistas y

es importante para establecer prioridades de conservación. La lista roja de especies amenazadas de la IUCN reúne información sobre el estado de las poblaciones, historia de vida, reproducción, distribución, amenazas, entre otras características, para catalogar el estado de conservación de las especies. Esta lista considera a *M. vivesi*, *M. harrisoni* y *R. mira* como vulnerables (VU) y a *M. planiceps*, *M. findleyi*, *Myotis peninsularis* y *R. genowaysi* como en Peligro (EN; IUCN, 2022). El resto de las especies están clasificadas como Preocupación menor (LC), tales como *P. mexicanus* (Solari, 2016). Por otra parte, especies como *M. vivesi* y *M. planiceps* están catalogadas en Peligro de Extinción por la NOM-059 (SEMARNAT, 2010).

## Escala de vulnerabilidad ante el cambio climático

Para analizar la vulnerabilidad de los murciélagos endémicos se propuso una escala que abarca el grado de vulnerabilidad (de menor a la mayor), tomando en cuenta las características identificadas en la sección anterior (Tabla 2). De acuerdo con esta escala, las especies más vulnerables son *M. findleyi*, *M. planiceps* y *R. genowaysi* (Tabla 3). Posteriormente, se realizó un análisis de clúster jerárquico y un Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS) para agrupar a las especies por sus rasgos e identificar a los grupos de acuerdo con su similitud en un espacio n-dimensional. El dendrograma muestra que las especies más amenazadas de acuerdo con la IUCN tienen mayor similitud en sus rasgos (Figura 7a) y que las características que las agrupan son principalmente la rareza, distribución y tamaño (Figura 7b).

**Tabla 2. Escala de vulnerabilidad de acuerdo con características biológicas y ecológicas construida para los murciélagos endémicos de México.**

Característica	Menor vulnerabilidad		Mayor vulnerabilidad
Distribución	Amplia (0)	Restringida (1)	Altamente restringida (2)
Rareza	Común >1000 registros (0)	100–999 registros (1)	Rara <100 registros (2)
Tamaño	Grandes AB> 50 mm (0)	Medianos AB: 30–49 mm (1)	Pequeño AB< 30 mm (2)
Dieta	Insectívoros-generalistas (0)	Insectívoros-especialistas, piscívoros y frugívoros-generalistas (1)	Frugívoros especialistas y nectarívoros (2)
Patrón reproductivo	Poliestro (0)		Monoestro (1)
Historia de vida	Rápida: muchas crías, menor longevidad (0)		Lenta: pocas crías, mayor longevidad (1)
Capacidad de dispersión	Alta (0)		Baja (1)
Carga alar y relación de aspecto	Alta > 8 (0)	Intermedia 6.5–7.5 (1)	Baja < 6.5 (2)
Estado de conservación	LC (0)	NT (1), VU (2)	EN (3)

**Tabla 3. Escala de vulnerabilidad para los murciélagos endémicos de México de acuerdo con sus características biológicas y ecológicas.**

Familia/ especie	DIS	RAR	TAM	DIE	PREP	HVID	CDIS	CA-RA	ECON	Total
Mormoopidae <i>P. mexicanus</i>	1	0	0	0	1	1	0	1	0	4
Phyllostomidae <i>G. morenoi</i>	1	1	1	2	0	1	1	1	0	8
<i>M. harrisoni</i>	1	1	1	2	1	1	1	2	2	12
<i>A. hirsutus</i>	0	0	0	2	0	1	0	2	0	5
<i>C. scopaeum</i> Vespertilionidae	0	1	1	2	0	1	1	2	0	8
<i>Co. mexicanus</i>	0	0	1	1	1	1	1	2	1	8
<i>M. findleyi</i>	2	2	2	1	1	1	1	2	3	15
<i>M. peninsularis</i>	2	1	1	1	1	1	1	2	3	13
<i>M. planiceps</i>	2	2	2	1	1	1	1	2	3	15
<i>M. vivesi</i>	2	0	0	1	1	1	0	2	2	10
<i>R. alleni</i>	1	1	1	1	1	0	1	2	0	8
<i>R. genowaysi</i>	2	2	2	1	1	0	1	2	3	14
<i>R. tumida</i>	0	0	2	1	1	0	1	2	0	7
<i>R. gracilis</i>	2	2	1	1	1	0	1	2	0	10
<i>R. mira</i>	2	2	2	1	1	0	1	2	2	13
<i>R. parvula</i>	0	0	2	1	0	0	1	2	0	6
Molossidae <i>Cy. mexicanus</i>	0	2	1	2	1	1	0	0	0	7

DIS= Distribución, RAR= Rareza, TAM= Tamaño, DIE= Dieta, PREP= Patrón reproductivo, HVID= Historia de vida, CDIS= Capacidad de dispersión, CA-RA= Carga alar y relación de aspecto, ECON= Estado de conservación, 0= vulnerabilidad baja, 1= vulnerabilidad intermedia, 2= vulnerabilidad alta (de acuerdo con la Tabla 2).

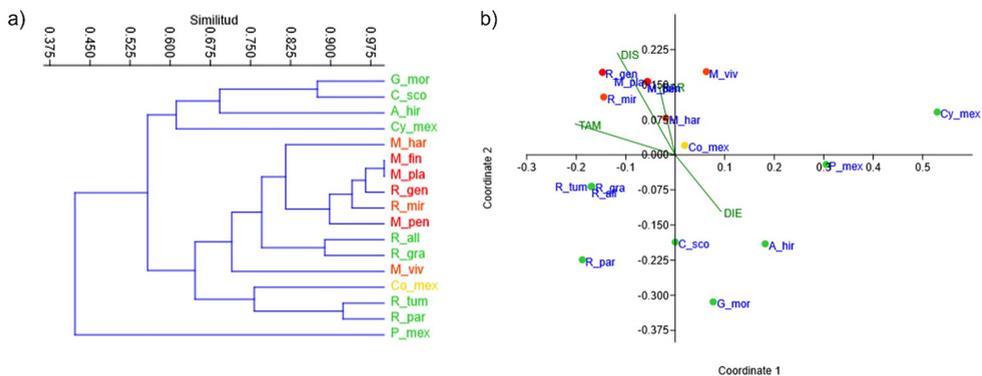


Figura 7a ) Dendrograma de similitud entre las especies de murciélagos endémicas de México de acuerdo con las características biológicas y ecológicas consideradas y b) Escalamiento Multidimensional No Métrico. El color de los nombres de las especies en a) y de los puntos en b) corresponden a la categoría de conservación de la IUCN: verde= LC, amarillo= NT, naranja= VU y rojo= EN.

El índice EDGE (Evolutionarily Distinct and Globally Endangered) es otra herramienta que ayuda en la toma de decisiones para priorizar la conservación de especies críticamente amenazadas y con una mayor historia evolutiva (Isaac et al., 2007). El carácter distintivo o distintividad de una especie es una medida de unicidad con relación a un componente específico, por ejemplo, distintividad evolutiva (ED, por sus siglas en inglés). Dependiendo del propósito de conservación, se da prioridad a las especies que son ecológicamente distintas (índice EcoEDGE), evolutivamente distintas (índice EDGE) o ambas (índice EcoEDGE; Hidasi-Neto et al., 2015). Para los murciélagos endémicos se observa, por ejemplo, una ED alta en *P. mexicanus*, pero baja distintividad ecológica; mientras que para *M. vivesi* y *M. harrisoni* se observa una alta distintividad ecológica e intermedia ED (Figura 8a), por lo que estas últimas serían las especies de mayor prioridad bajo este enfoque. Por otra parte, si solo se toma en cuenta la ED, las especies prioritarias serían *M. findleyi*, *R. genowaysi*, *M. vivesi*, *R. mira*, *M. peninsularis*, *M. planiceps* y *M. harrisoni*, en ese orden (Figura 8b). La lista resultante proporciona un conjunto de prioridades para la conservación de los murciélagos endémicos de México

basadas en la probabilidad de que una especie se extinga y en su carácter irremplazable.

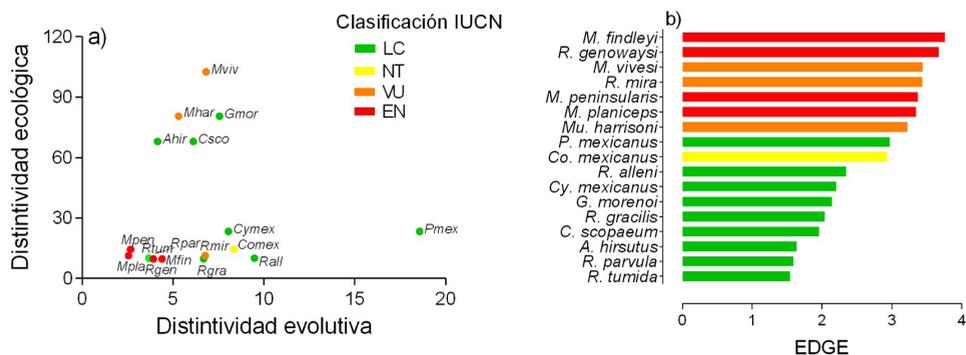


Figura 8a) Relación entre la distintividad evolutiva y distintividad ecológica y b) valores EDGE de las especies de murciélagos endémicas de México.

## Recomendaciones para la protección de especies endémicas vulnerables

De acuerdo con las aproximaciones expuestas, se recomienda realizar programas de monitoreo para las especies endémicas más vulnerables, tales como: *M. harrisoni*, *R. genowaysi*, *R. mira*, *R. gracilis*, *M. planiceps*, *M. findleyi*, *M. peninsularis* y *M. vivesi*. Estas especies son en general, de distribución restringida, de baja abundancia, de tamaño pequeño, se encuentran dentro de alguna categoría de riesgo y varias se distribuyen en regiones identificadas entre las que perderán más riqueza de especies. De la mayoría, se requiere información biológica y ecológica básica. Se necesita de una evaluación precisa sobre los principales eventos relacionados con el cambio climático a los que estarán expuestas cada una de las especies, así como promover corredores que conecten el área de distribución conocida con áreas potenciales.

Entre otras estrategias de conservación, se requiere promover el mantenimiento y regeneración de los bosques, especialmente en aquellas regiones donde habitan las especies endémicas; mantener brigadas para la detección

oportuna y el control de los incendios forestales; promover la conservación de los refugios de las especies de murciélagos endémicas; limitar la entrada a los refugios, especialmente durante el tiempo de apareamiento y nacimientos de las crías y promover la educación en todos los niveles sobre la importancia de la biodiversidad en general.

## Conclusiones

Las escalas de vulnerabilidad cuantitativas pueden guiar en la toma de decisiones informadas para la planificación y ejecución de estrategias de conservación. Esto permitirá identificar prioridades y asignar recursos de manera eficiente para proteger a las especies endémicas más amenazadas. La vulnerabilidad de las especies de murciélagos endémicas de México requiere una evaluación que combine diferentes escenarios climáticos y aproximaciones metodológicas. Se necesita conocer la mayoría de los aspectos biológicos y ecológicos de estas especies para evaluar su vulnerabilidad. La fragilidad de las especies frente al cambio climático es multifactorial, entre más variables se tomen en cuenta, las proyecciones serán más precisas. El cambio climático actúa en sinergia con otros estresores antropogénicos: degradación y pérdida de hábitat, intensificación de la urbanización, agricultura y ganadería, contaminación ambiental, entre otros. Se hace una invitación a integrar las recomendaciones derivadas de este análisis en políticas de conservación y planes de manejo a nivel local, regional y nacional. Así como a la colaboración entre científicos, conservacionistas y responsables de la toma de decisiones para asegurar la implementación efectiva de medidas de conservación.

## Bibliografía

Ancillotto, L., Fichera, G., Pidinchedda, E., Veith, M., Kiefer, A. Mucedda, M., & Russo, D. (2021). Wildfires, heatwaves and human disturbance threaten insular endemic bats. *Biodiversity and Conservation*, 30, 4401–4416. <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02313-5>

Arita, H. T., Figueroa, F., Frisch, A., Rodríguez, P., & Santos-Del-Prado, K. (1997). Geographical Range Size and the Conservation of Mexican Mammals. *Conservation Biology*, 11(1), 92–100. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1997.95274.x>

Bergmann, C. (1847). Ueber die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Grösse. *Göttingen Studien*, 1, 116.

Berteaux, D., Humphries, M. M., Krebs, C. J., Lima, M., McAdam, A. G., Pettorelli, N., Réale, D., Saitoh, T., Tkadlec, E., Weladji, R. B., & Stenseth, N. C. (2006). Constraints to projecting the effects of climate change on mammals. *Climate Research*, 32(2), 151–158. <https://doi.org/10.3354/cr032151>

Bisson, I.-A., Safi, K., & Holland, R. A. (2009). Evidence for repeated independent evolution of migration in the largest family of bats. *PLOS ONE*, 4(10), e7504. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007504>

Bronson, F. H. (2009). Climate change and seasonal reproduction in mammals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1534), 3331–3340. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0140>

Castillo-Figueroa, D. (2020). Ecological morphology of Neotropical bat wing structures. *Zoological Studies*, 59, e60. <https://doi.org/10.6620/ZS.2020.59-60>

Catford, J. A., Vesk, P. A., Richardson, D. M. & Pyšek, P. (2012). Quantifying levels of biological invasion: towards the objective classification of invaded and invulnerable ecosystems. *Global Change Biology*, 18, 44–62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02549.x>

Festa, F., Ancillotto, L., Santini, L., Pacifici, M., Rocha, R., Toshkova, N., Amorim, F., Benítez-López, A., Domer, A., Hamidović, D., Kramer-Schadt, S., Mathews, F., Radchuk, V., Rebelo, H., Ruczynski, I., Solem, E., Tsoar, A., Russo, D., & Razgour, O. (2023). Bat responses to climate change: a systematic review. *Biological Reviews*, 98, 19–33. <https://doi.org/10.1111/brv.12893>

Foden, W. B. & Young, B. E. (eds.) (2016). IUCN SSC Guidelines for Assessing Species' Vulnerability to Climate Change. Version 1.0. Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission No. 59. Cambridge, UK and Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission. x+114pp.

Fourcade, Y., & Alhajeri, B. H. (2023). Environmental correlates of body size influence range size and extinction risk: A global study in rodents. *Global Ecology and Biogeography*, 32(2), 206–217. <https://doi.org/10.1111/geb.13622>

Frey, J. K. (2009). Distinguishing range expansions from previously undocumented populations using background data from museum records. *Diversity and Distributions*, 15(2), 183–187. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2008.00552.x>

Frick, W. F., Kingston, T., & Flanders, J. (2020). A review of the major threats and challenges to global bat conservation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1469(1), 5–25. <https://doi.org/10.1111/nyas.14045>

Furey, N. M., & Racey, P. A. (2016). Can wing morphology inform conservation priorities for Southeast Asian cave bats? *Biotropica*, 48(4), 545–556. <https://doi.org/10.1111/btp.12322>

Garbino, G. S. T., Hernández-Canchola, G., León-Paniagua, L., Tavares, V. da C. (2024). A new Mexican endemic species of yellow-eared bat in the genus *Vampyressa* (Phyllostomidae, Stenodermatinae). *Journal of Mammalogy*, gya001. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyae001>

GBIF.org. (2024). GBIF Home Page. Disponible en: <https://www.gbif.org> [27 mayo 2024]

Hantak, M. M., McLean, B. S., Li, D., & Guralnick, R. P. (2021). Mammalian body size is determined by interactions between climate, urbanization, and ecological traits. *Communications Biology*, 4(1), 972. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02505-3>

Herrera M., L. G., Flores-Martínez, J. J., & Sánchez-Cordero, V. (2019). Geographical distribution and conservation status of an endemic insular mammal: The Vulnerable fish-eating bat *Myotis vivesi*. *Oryx*, 53(2), 388–393. <https://doi.org/10.1017/S0030605317000874>

Hidasi-Neto, J., Loyola, R., & Cianciaruso, M. V. (2015). Global and local evolutionary and ecological distinctiveness of terrestrial mammals: identifying priorities across scales. *Diversity and Distributions*, 21(5), 548-559. <https://doi.org/10.1111/ddi.12320>

Hody, J. W., & Kays, R. (2018). Mapping the expansion of coyotes (*Canis latrans*) across North and Central America. *ZooKeys*, 759, 81. 10.3897/zookeys.759.15149.

Hurme, E., Gurarie, E., Greif, S., Herrera M., L. G., Flores-Martínez, J. J., Wilkinson, G. S., & Yovel, Y. (2019). Acoustic evaluation of behavioral states predicted from GPS tracking: A case study of a marine fishing bat. *Movement Ecology*, 7(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s40462-019-0163-7>

INECC (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático). México. (2021). *Programa Especial de Cambio Climático 2021-2024*. Diario Oficial de la Federación (DOF), lunes 8 de noviembre de 2021.

IPCC. (2023). Summary for Policymakers. In: Core Writing Team, H. Lee, y J. Romero (Eds.), *Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC* (pp. 1–34). Geneva, Switzerland. doi: 0.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001.

Isaac, J. L. (2009). Effects of climate change on life history: implications for extinction risk in mammals. *Endangered Species Research*, 7(2), 115–123. <https://doi.org/10.3354/esr00093>

Isaac, N. J. B., Turvey, S. T., Collen, B., Waterman, C., y Baillie, J. E. M. (2007) Mammals on the EDGE: conservation priorities based on threat and phylogeny. *PLoS ONE*, 2(3), e296. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000296>

Işik, K. (2011). Rare and endemic species: why are they prone to extinction?. *Turkish Journal of Botany*, 35(4), 411–417. <https://doi.org/10.3906/bot-1012-90>

IUCN. (2022). *The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-2*. <https://www.iucnredlist.org>. Acceso: 30, agosto, 2023

Jackson, J., Le Coeur, C., & Jones, O. (2022). Life history predicts global population responses to the weather in terrestrial mammals. *eLife*, 11, e74161. <https://doi.org/10.7554/eLife.74161>

Jones, K. E., Bielby, J., Cardillo, M., Fritz, S. A., O'Dell, J., Orme, C. D. L., Safi, K., Sechrest, W., Boakes, E. H., Carbone, C., Connolly, C., Cutts, M. J., Foster, J. K., Grenyer, R., Habib, M., Plaster, C. A., Price, S. A., Rigby, E. A., Rist, J., Teacher, A., Bininda-Emonds, O. R. P., Gittleman, J. L., Mace, G. M., & Purvis, A. (2009). PanTHERIA: a species-level database of life history, ecology, and geography of extant and recently extinct mammals. *Ecology*, 90(9), 2648. <https://doi.org/10.1890/08-1494.1>

Jones, K. E., Purvis, A., & Gittleman, J. L. (2003). Biological correlates of extinction risk in bats. *The American Naturalist*, 161(4), 601–614. <https://doi.org/10.1086/368289>

Korine, C., Adams, R., Russo, D., Fisher-Phelps, M., & Jacobs, D. (2016). Bats and water: Anthropogenic alterations threaten global bat populations. En C. C. Voigt y T. Kingston (Eds.), *Bats in the Anthropocene: Conservation of Bats in a Changing World* (pp. 215–241). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-25220-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-25220-9_8)

Kunz, T. H., Braun de Torrez, E., Bauer, D., Lobova, T., & Fleming, T. H. (2011). Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1223(1), 1–38. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06004.x>

Kuparinen, A., Yeung, E., & Hutchings, J. A. (2023). Correlation between body size and longevity: New analysis and data covering six taxonomic classes of vertebrates. *Acta Oecologica*, 119, 103917. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2023.103917>

López-Aguirre, C., Hand, S. J., Laffan, S. W., & Archer, M. (2018). Phylogenetic diversity, types of endemism and the evolutionary history of New World bats. *Ecography*, 41(12), 1955–1966. <https://doi.org/10.1111/ecog.03260>

López-Cuamatzi, I. L., Ortega, J., Ospina-Garcés, S. M., Zúñiga, G., & MacSwiney G., M. C. (2024) Molecular and morphological data suggest a new species of big-eared bat (Vespertilionidae: *Corynorhinus*) endemic to northeastern Mexico. *PLOS ONE* 19(2), e0296275. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0296275>

- Lucas, P. M., González-Suárez, M., & Revilla, E. (2019). Range area matters, and so does spatial configuration: predicting conservation status in vertebrates. *Ecography*, 42(6), 1103–1114. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/ecog.03865>
- Luo, B., Santana, S. E., Pang, Y., Wang, M., Xiao, Y., & Feng, J. (2019). Wing morphology predicts geographic range size in vespertilionid bats. *Scientific Reports*, 9, 4526. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41125-0>
- Manes, S., Costello, M. J., Beckett, H., Debnath, A., Devenish-Nelson, E., Grey, K., Jenkins, R., Ming Khan, T., Kiessling, W., Krause, C., Maharaj, S. S., Midgley, G. F., Price, J., Talukdar, G., & Vale, M. M. (2021). Endemism increases species' climate change risk in areas of global biodiversity importance. *Biological Conservation*, 257, 109070. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109070>
- Marinello, M. M., & Bernard, E. (2014). Wing morphology of Neotropical bats: a quantitative and qualitative analysis with implications for habitat use. *Canadian Journal of Zoology*, 92(2), 141–147. <https://doi.org/10.1139/cjz-2013-0127>
- Mims, M. C., Olson, D. H., Pilliod, D. S., & Dunham, J. B. (2018). Functional and geographic components of risk for climate sensitive vertebrates in the Pacific Northwest, USA. *Biological Conservation*, 228, 183–194. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.10.012>
- Morrone, J. J. (1994). On the identification of areas of endemism. *Systematic Biology*, 43(3), 438–441. <https://doi.org/10.1093/sysbio/43.3.438>
- Morrone, J. J. (2008). Endemism. In S. E. Jørgensen, y B. D. Fath (Eds.), *Encyclopedia of Ecology* (pp. 1254–1259). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00786-2>
- Newsome, T. M., Wolf, C., Nimmo, D. G., Kopf, R. K., Ritchie, E. G., Smith, F. A., & Ripple, W. J. (2020). Constraints on vertebrate range size predict extinction risk. *Global Ecology and Biogeography*, 29(1), 76–86. <https://doi.org/10.1111/geb.13009>
- O'Grady, J. J., Reed, D. H., Brook, B. W., & Frankham, R. (2004). What are the best correlates of predicted extinction risk? *Biological Conservation*, 118(4), 513–520. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2003.10.002>

Pacifici, M., Foden, W. B., Visconti, P., Watson, J. E. M., Butchart, S. H. M., Kovacs, K. M., Scheffers, B. R., Hole, D. G., Martin, T. G., Akçakaya, H. R., Corlett, R. T., Huntley, B., Bickford, D., Carr, J. A., Hoffmann, A. A., Midgley, G. F., Pearce-Kelly, P., Pearson, R. G., Williams, S. E., Willis, S. G., Young, B., & Rondinini, C. (2015). Assessing species vulnerability to climate change. *Nature Climate Change*, 5, 215–224. <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate2448>

Parmesan, C. (2006). Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37(1), 637–669. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110100>

Ramírez-Fráncel, L. A., García-Herrera, L. V., Losada-Prado, S., Reinoso-Flórez, G., Sánchez-Hernández, A., Estrada-Villegas, S., Lim, B. K., & Guevara, G. (2022). Bats and their vital ecosystem services: a global review. *Integrative Zoology*, 17(1), 2–23. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12552>

Ramírez-Pulido, J., Arroyo, J., & Castro, C. A. (2005). Estado actual y relación nomenclatural de los mamíferos terrestres de México. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)*, 21(1), 21–82. <https://doi.org/10.21829/azm.2005.2112008>

Sánchez-Cordero, V., Illoldi-Rangel, P., Linaje, M., Sarkar, S., & Peterson, A. T. (2005). Deforestation and extant distributions of Mexican endemic mammals. *Biological Conservation*, 126(4), 465–473. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.06.022>

Safi, K. & Kerth, G. (2004). A comparative analysis of specialization and extinction risk in temperate-zone bats. *Conservation Biology*, 18, 1293–1303. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.00155.x>

Schloss, C. A., Nuñez, T. A., & Lawler, J. J. (2012). Dispersal will limit ability of mammals to track climate change in the Western Hemisphere. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(22), 8606–8611. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116791109>

SEMARNAT. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental– Especies nativas de México de flora y fauna silvestres– Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio– Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación 30 diciembre, 2010.

Sil-Berra, L. M., Aguilar-López, M., Márquez-Medero, M. A., & Cervantes-Cruz, J. M. (2022a). De México para el mundo... los murciélagos endémicos. *Therya ixmana*, 1(1), 29–31. [https://doi.org/10.12933/therya\\_ixmana-22-186](https://doi.org/10.12933/therya_ixmana-22-186)

Sil-Berra, L. M., Sánchez-Hernández, C., Romero-Almaraz, M. L., & Reynoso, V. H. (2021). Vulnerability to natural disturbance in communities of Neotropical bats: Short-term impact of Hurricane Patricia on the Mexican Pacific Coast. *Forest Ecology and Management*, 479, 118596. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118596>

Sil-Berra, L. M., Sánchez-Hernández, C., Romero-Almaraz, M. L., & Reynoso, V. H. (2022b). Bat species diversity and abundance of trophic guilds after a major hurricane along an anthropic disturbance gradient. *Diversity*, 14(10), 818. <https://doi.org/10.3390/d14100818>

Solari, S. (2016). *Pteronotus parnellii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T88017638A22077695. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T88017638A22077695.en>. Acceso: 30, agosto, 2023

Sunday, J. M., Bates, A. E., & Dulvy, N. K. (2012). Thermal tolerance and the global redistribution of animals. *Nature Climate Change*, 2: 686–690. <https://doi.org/10.1038/nclimate1539about:blank>

Ureta, C., Ramírez-Barrón, M., Sánchez-García, E. A., Cuervo-Robayo, A. P., Munguía-Carrara, M., Mendoza-Ponce, A., Gay, C., & Sánchez-Cordero, V. (2022). Species, taxonomic, and functional group diversities of terrestrial mammals at risk under climate change and land-use/cover change scenarios in Mexico. *Global Change Biology*, 28(23), 6992–7008. <https://doi.org/pbidi.unam.mx:2443/10.1111/gcb.16411>

Voigt, C. C., & Kingston, T. (2016). *Bats in the Anthropocene: Conservation of bats in a changing world*. Springer.

Zamora-Gutierrez, V., Pearson, R. G., Green, R. E., & Jones, K. E. (2018). Forecasting the combined effects of climate and land use change on Mexican bats. *Diversity and Distribution*, 24 (3), 363– 374. <https://doi.org/10.1111/ddi.12686>

Zhu, G., Papeş,, M., Armsworth, P. R., & Giam, X. (2022). Climate change vulnerability of terrestrial vertebrates in a major refuge and dispersal corridor in North America. *Diversity and Distributions*, 28 (6), 1227–1241. <https://doi.org/10.1111/ddi.13528>



## Capítulo 8

Uso combinado de técnicas reproductivas  
para aumentar los porcentajes  
de gestación en ganado bovino

Salvador Romo García  
Horacio Álvarez Gallardo



## Introducción

La producción de gestaciones en ganado bovino por medio de técnicas reproductivas avanzadas es de gran importancia para el mejoramiento genético y para aumentar la producción de alimentos de origen animal de alta calidad que contribuyan a satisfacer la creciente demanda nacional e internacional de proteína animal.

En el reporte más reciente de la International Embryo Technology Society (IETS) de 2021 (Viana, 2022) México ocupa el cuarto lugar mundial en la cantidad de embriones bovinos producidos y transferidos, con un total de 97,671, solamente detrás de Colombia, con 111,917, de Brasil, con 449,867 y de los Estados Unidos, con 802,047.

Lo anterior coincide con los crecientes aumentos en la producción de embriones bovinos producidos *in vitro* a nivel mundial, según información generada por la IETS en sus registros de 2002 a 2021 (Viana, 2022).

Por otra parte, desde hace más de 70 años se presenta una disminución en la cantidad de vientres bovinos en México, que puede constatarse al revisar datos de 1950, cuando había 28 millones cabezas de ganado y 25 millones de habitantes. En 1980 el hato ganadero fue censado (SAGARPA, 2014), con una cantidad de 32 millones de cabezas de ganado bovino y una población humana de 76 millones de habitantes.

Actualmente, somos 126 millones de mexicanos (INEGI, 2020) y sigue habiendo un censo de aproximadamente 36 millones de cabezas de ganado (SAGARPA, 2022). Por lo anterior, el país importa grandes cantidades de productos y subproductos provenientes de estos animales y en el comercio internacional, México pasó de ser exportador de carne y animales en pie para engorda, a ser uno de los principales países importadores de carne de bovino. Los productos y derivados de los bovinos domésticos son parte fundamental de la dieta del ser humano, ya que proporcionan los nutrientes necesarios para una correcta alimentación.

Ante el actual déficit de cabezas de ganado se considera necesaria la implementación de medidas y el enfoque de las investigaciones para aumentar la producción de ganado, cuidando el tipo y la calidad de éste. Existen reportes de que en el pasado se utilizaron diferentes técnicas para inducir

gestaciones y partos gemelares, en un intento por aumentar la productividad en el ganado bovino (Johnson et al., 1989; O'Farrell y Mee, 1990; Horta et al., 1993). Pero en ese tiempo los resultados no fueron exitosos, principalmente a causa de la condición conocida como Freemartinismo (en ésta, la mayoría de las hembras que comparten una gestación gemelar con un feto de sexo masculino son estériles) y a la elevada incidencia de distocias o partos difíciles (por alto peso al nacimiento y/o mala presentación de los dos fetos al momento del parto).

## Antecedentes

En la actualidad es posible combinar el uso de técnicas reproductivas modernas, como la Producción in vitro de embriones (PIV), con el uso de semen sexado y con la transferencia simultánea de dos embriones de sexo femenino (Romo, 2007; Ducolomb et al., 2012; Romo et al., 2012; Romo et al., 2013a).

De esta forma se producen gestaciones con embriones de un mismo sexo, se disminuye la probabilidad de Freemartinismo, se aumenta la proporción de gestaciones con gemelos del mismo sexo y de bajo peso al nacimiento, abriendo la posibilidad de obtener resultados que nunca pudieron lograrse con semen convencional. Estas nuevas biotecnologías pueden ser adaptadas para incrementar la probabilidad de obtener un 95% de machos o de hembras, en comparación con lo que ocurre en forma natural (50%). Por otra parte, alrededor del 60% de la producción ganadera nacional en México pertenece al tipo Cebú (*Bos indicus*) o sus cruza, que es un ganado adaptado a climas tropicales y subtropicales, proveniente de estados localizados en regiones tropicales y semitropicales. Este ganado constituye una fuente muy importante de producción de alimentos y de trabajo para la población de menos recursos económicos en zonas rurales y sub-urbanas. También sabemos que la eficiencia productiva de ganado Cebú se mejora cuando se cruza con razas de ganado europeo (*Bos taurus*), especialmente en el cruce denominado F1, uno de los tipos más eficientes de ganado en las condiciones de elevada temperatura y humedad de los ambientes tropicales. Por lo tanto, en México es altamente deseable contar con la capacidad de producir un mayor número de crías de sexo femenino, para contribuir a aumentar la producción de carne. Una vez que las crías producidas con estas tecnologías

lleguen a la edad adulta serán una fuente para producir ganado altamente productivo en ambientes tropicales, de utilidad para incrementar el hato ganadero y para sustituir a los animales menos productivos, de diferentes razas y cruzas.

En la actualidad los porcentajes de concepción obtenidos con el semen sexado de última generación (SexedULTRA-4M y UltraPlus) se aproximan a los del semen no sexado o convencional (Thomas *et al.*, 2017). Este semen contiene 4 millones de espermatozoides por pajilla, dos veces más en comparación con el semen sexado que fue producido originalmente, y además con una exactitud de género de más del 90%, es decir, con un mínimo de 90% de hembras nacidas (Lenz *et al.*, 2017; González-Marin *et al.*, 2017).

## Objetivo

El objetivo de este trabajo es difundir el hecho de que en la actualidad ya es posible llevar a cabo el uso combinado de técnicas reproductivas avanzadas, para aumentar los porcentajes de gestación en ganado bovino. Estas técnicas son la producción *in vitro* de embriones, el uso de semen sexado y la transferencia simultánea de dos embriones de sexo femenino, que empleados en conjunto sirven para mejorar la capacidad reproductiva y genética, propiciando un rápido incremento de la cantidad de ganado bovino en México. Además de lo anterior, las técnicas reproductivas antes citadas constituyen un modelo que podría ser adaptado para su uso en otras especies de animales domésticos y no domésticos, en particular en especies en peligro (Romo *et al.*, 2013b).

## Técnicas reproductivas

Sexado espermático por cuantificación del ADN. Utiliza como base la determinación del contenido de ADN en los espermatozoides. En 1976 Gledhill *et al.*, evaluaron el contenido de ADN espermático en diferentes especies animales (conejo, toro, cerdo, caballo, entre otras) mediante la técnica de Citometría de Flujo. En este trabajo encontraron que la distribución de las poblaciones dependía de la forma de la cabeza de los espermatozoides y su orientación.

El siguiente paso en el desarrollo de la tecnología de sexado espermático fue la cuantificación del ADN de los cromosomas “X” y “Y” en espermatozoides de especies domésticas. En 1983 Garner *et al.*, trabajaron con espermatozoides de toro, de cerdo, de borrego y de conejo. En este estudio lograron encontrar una diferencia en cuanto al contenido de ADN entre el cromosoma “X” y “Y” del 3.9% en toros, 3.7% en cerdos, 4.1% en borregos y 3.9% en conejos. En el caso de los toros, utilizaron 25 toros representando 5 razas (Jersey, Holstein, Hereford, Angus y Brahman) y observaron que el promedio entre la población de espermatozoides con cromosoma “Y” estuvo en un rango del 49.5 al 50.5% para todas las razas. Las diferencias entre los espermatozoides con cromosoma “X” y “Y” no varió dentro de cada raza, pero fueron significativamente diferentes cuando se compararon entre razas. La raza Jersey tuvo la mayor diferencia entre el cromosoma “X” y el “Y” y la raza Brahman tuvo la menor diferencia, lo que indica que la raza Jersey es más fácil de sexar, en comparación con la raza Brahman.

Los espermatozoides con cromosomas “X” y “Y” pueden ser separados en base a contenido de ADN usando citometría de flujo (CF) (Garner, 2001; Garner y Seidel, 2003). En general la técnica de CF consiste en diferenciar y separar a los espermatozoides “X” y “Y” con base a su contenido de ADN. En toros, los espermatozoides “X” (que producen hembras) contienen un promedio de 3.8% más ADN que los espermatozoides “Y” (que producen machos) (Garner, 2001). La CF consiste en un circuito cerrado de alta velocidad de un flujo de líquido en el que viajan los espermatozoides, que permite alinear y evaluar a los espermatozoides individualmente al separarlos en microgotas. Cada espermatozoide es teñido y la fluorescencia que produce es procesada por un software que permite al operador seleccionar la población espermática con mayor o menos fluorescencia o luminosidad, según el sexo que se quiera separar. A los espermatozoides elegidos se les da una carga eléctrica, con lo que son desviados del flujo original en un campo magnético para que finalmente sean separados y recolectados (Oses *et al*, 2009). Después se concentran mediante centrifugación y posteriormente son congelados en pajillas de plástico con un volumen de 0.25 ml.

La tecnología “XY” descrita por varios autores (Johnson y Welch, 1999; Schenk *et al.*, 1999; Seidel *et al.*, 1999) se ha ido modificando y actualmente ha cambiado a sistemas nuevos de sexado llamados “SexedULTRA-4M” y

“UltraPlus” (ST Genetics, Navasota, Texas, USA). Estas nuevas presentaciones se han diseñado para ser más inocuas para el espermatozoide durante los puntos más críticos del proceso, evitando particularmente los cambios de pH (sistema buffer) y disminuyendo el estrés oxidativo. El periodo de mayores mejoras para el semen sexado ha sido entre 2022 y 2023, cuando se obtuvieron los mejores resultados de campo en porcentajes de preñez. Además de mejorar el porcentaje de concepción, también se ha logrado mayor exactitud en la proporción de sexos, produciendo más hembras y mejorando el costo-beneficio esperado para el productor que usa esta tecnología. Como resultado, el sexado de espermatozoides por CF ha logrado convertirse en una herramienta muy importante y cada vez más utilizada, para el mejoramiento genético de la industria ganadera.

*Aspiración folicular guiada por ultrasonido.* La aspiración folicular guiada por ultrasonido o mejor conocida como OPU por sus siglas en inglés (Ovum Pick Up), tiene como principal objetivo la colecta de ovocitos (principalmente inmaduros) de donadoras genéticamente superiores, para su consecuente maduración, fertilización y cultivo in vitro, con la finalidad de obtener embriones que alcancen el estadio de blastocisto, los cuales serán transferidos a vacas receptoras previamente sincronizadas (Merton et al., 2003). Después del desarrollo inicial de la técnica, se llevaron a cabo muchos estudios para generar las mejoras en la técnica que actualmente se utiliza ampliamente como herramienta de mejoramiento genético.

La OPU es una técnica poco invasiva con la cual se pueden obtener ovocitos de mejor calidad que con la aspiración folicular *post-mortem*. Esta técnica se adaptó originalmente de la desarrollada en reproducción humana, con lo que se obtuvo un método poco invasivo para la recuperación repetida de ovocitos de vacas donadoras vivas, y previamente seleccionadas por su alto mérito genético para producir un gran número de crías con rasgos de producción previamente seleccionados y acortando el intervalo generacional en programas de cría, produciendo más embriones y preñeces por vaca donadora, en comparación con la técnica de superovulación y programas de transferencia de embriones tradicionales del tipo MOET (Merton et al., 2003).

El sistema OPU se compone de tres partes: un ultrasonido con un transductor micro convexo de 5- 7.5 Mhz, una bomba de aspiración y una guía que

contiene una aguja conectada a una línea de aspiración (Bols et al., 1996). Las vacas utilizadas para OPU deben estar bien inmovilizadas y/o pueden ser sedadas en caso de ser necesario. Las heces deben ser removidas del recto durante la palpación y se realiza anestesia epidural con lidocaína al 2% para evitar el movimiento del recto durante el procedimiento. La vulva y el periné deberán ser limpiados y desinfectados antes que sea introducido el dispositivo de OPU. La guía tiene un mango mediante el cual puede ser manipulada con una mano fuera de la vaca. La cabeza del transductor se fija en posición cráneo dorsal en el fondo de la vagina, por encima del cérvix (Kobayashi, 2016). Introduciendo la otra mano en el recto, el operador fija el ovario contra la cabeza del transductor. De esta forma, el ovario y sus folículos pueden ser visualizados en la pantalla del ultrasonido. Debido a que el sistema de guía de la aguja está ubicado cerca del transductor, la aguja se visualiza en el sector escaneado, pudiendo puncionarse los folículos cuyo contenido es aspirado, por lo que al ser aspirados éstos desaparecen del campo ultrasonográfico.

Para realizar la punción de todos los folículos observados, el ovario se debe mover de arriba hacia abajo y de un lado al otro hasta que todos los folículos sean aspirados. Existen equipos de ultrasonido que cuentan con una línea de punción que indica dónde debe ser ubicado el folículo para facilitar la punción. El operador mueve la aguja lentamente hacia craneal hasta que atraviesa la pared vaginal y penetra al folículo.

La aguja se conecta a la bomba de vacío que aspira el contenido del folículo. El líquido folicular y el ovocito contenido en el interior del folículo son recolectados en un recipiente que contiene un medio especial de recolección, adicionado heparina como anticoagulante (Palma, 2001). La aguja está conectada por medio de un dispositivo de acero inoxidable a un tubo de silicón que pasa a través de un tubo de acero inoxidable, para poder mover hacia adelante y atrás la guía de acero inoxidable a través de la parte interna del dispositivo. Los distintos diámetros de la pieza de conexión, el tubo de acero inoxidable y el tubo de silicón provocan que este último quede atrapado entre las partes de acero inoxidable cuando la aguja es ubicada en el tubo, creando una estructura rígida que permite el movimiento de la aguja hacia adelante y hacia atrás, de esta forma la aguja que con el uso queda desafilada puede ser reemplazándola por otra nueva (Palma, 2001).

El transductor cuenta con un campo ultrasonográfico de 150°. Este puede ser de 5 a 7.5 MHz, prefiriéndose el de 7.5 Mhz ya que tiene mejor resolución y permite localizar más fácilmente los folículos pequeños (Kobayashi, 2016). El campo ultrasonográfico de 150° permite una fácil manipulación de los ovarios y ubicación de los folículos en la línea de punción, lo que permite el uso de agujas más cortas que entran directamente en el campo ecográfico. El transductor y el sistema de guía de la aguja están insertados en el mango para permitir al operador fijar el dispositivo de OPU mientras este se encuentra en la vagina, presionando suavemente el mango con la mano derecha, dejando la mano izquierda libre para manipular el ovario. Para realizar la aspiración, se utiliza una bomba de vacío (Palma, 2001).

El genotipo de las donadoras tiene mucho que ver con la población folicular presente en los ovarios. Se sabe que las donadoras de razas *B. indicus* superan de 2 a 4 veces la cantidad de ovocitos colectados por OPU, en comparación con las donadoras de razas *B. taurus*. Se ha reportado que las donadoras *B. indicus* tienen más oleadas foliculares y una mayor población de folículos antrales mayores de 5 mm de diámetro, en comparación con las *B. taurus* (Silva-Santos et al., 2011).

Otro hecho demostrado es que se pueden generar embriones de mayor calidad y de manera eficiente cuando se utilizan ovocitos madurados in vivo colectados por OPU, en comparación con ovocitos inmaduros.

*Maduración in vitro (MIV)*. La MIV es una técnica que involucra la recuperación de los ovocitos inmaduros por medio de la aspiración de folículos ováricos antes de completar su crecimiento in vivo para ser cultivados a partir de la etapa llamada “Vesícula Germinal” (VG) hasta la etapa de “Metafase II” (MII). La MIV es un evento fisiológico que incluye tanto la maduración del núcleo como la maduración del citoplasma del ovocito. Después del nacimiento de una hembra, sus ovocitos son arrestados en Profase I de la primera división meiótica, hasta que son estimulados por las gonadotropinas para reanudar la meiosis, justo antes de la ovulación.

El concepto de maduración nuclear hace referencia a la reanudación de la meiosis y a la subsiguiente ruptura de la VG y su paso a MII, mientras que, la maduración citoplasmática se refiere a la preparación del citoplasma del

ovocito para su fertilización y su posterior desarrollo hasta convertirse en un embrión (Cha y Chian, 1998).

El término de “maduración *in vitro*” se refiere a la maduración de ovocitos inmaduros en un medio de cultivo, después de su recuperación, derivados de folículos ováricos que pudieron o no haber sido expuestos a FSH, pero no fueron expuestos a LH ni a gonadotropina coriónica humana (hCG) antes de la recuperación para inducir la reanudación meiótica (Cha *et al.*, 1991). Los ovocitos maduros pueden ser clasificados de acuerdo con Palma (2001) en los siguientes criterios. 1. Sin expansión. 2. Mala expansión de las células del cúmulo. 3. Cúmulo moderadamente expandido 4. Cúmulo completamente expandido.

*Fertilización in vitro (FIV)*. Después de la MIV, los ovocitos son co-incubados con los espermatozoides. La mayoría de los laboratorios llevan a cabo la co-incubación durante un periodo de 22 a 24 horas, aunque la mayoría de los eventos fisiológicos de la fertilización se completan durante 12 horas de co-incubación (Hasler y Barfield, 2014).

El método comúnmente utilizado para la preparación de los espermatozoides para la FIV es por centrifugación a través de coloides. El más ampliamente utilizado es el Percoll, colocando una capa al 45% sobre otra capa al 90%. El semen descongelado se vierte sobre la capa de Percoll al 45% y se centrifuga a una velocidad de entre 600 y 800g (dependiendo del volumen) hasta conseguir en la punta de tubo una pastilla en la cual se encuentran los espermatozoides vivos (Hasler y Barfield, 2014).

Un método alternativo para aislar los espermatozoides intactos es el de “Swim Up”, el cual consiste en permitir a los espermatozoides nadar por sí mismos hacia la superficie del gradiente, desde donde finalmente se aspiran después de un período de tiempo (Hasler y Barfield, 2014).

*Cultivo embrionario in vitro (CIV), o Desarrollo embrionario in vitro (DIV)*. Se sabe que las condiciones de cultivo embrionario tienen un papel fundamental en la división celular, en la activación del genoma y en la compactación embrionaria, entre otras características (Moore *et al.*, 2007). Se ha reportado que las condiciones el medio de cultivo embrionario afectan la calidad de los embriones en la mayoría de las especies de mamíferos (Rizos *et al.*, 2002). El posible efecto negativo sobre la calidad embrionaria ha llevado a

los investigadores a hacer nuevas formulaciones de los medios, para producir embriones de mejor calidad.

Al llevar a cabo nuevas formulaciones para el desarrollo embrionario es necesario tomar en consideración la fisiología y el metabolismo del desarrollo embrionario, para tener la seguridad de que los nuevos sistemas de cultivo cumplan con los requerimientos fisiológicos que el embrión demanda (Gardner, 2008). El cultivo embrionario es el último paso de la PIV. Este proceso involucra 6 días de cultivo, durante los cuales los cigotos que iniciaron en fase de una célula deberán haberse convertido en blastocistos al final de ese lapso (Hasler y Barfield, 2014).

Una ventaja de las mejoras realizadas a los sistemas de cultivo embrionario ha sido la optimización en la producción de embriones y el desarrollo de su competencia, que pueden ser utilizados con fines de investigación (Hansen y Block, 2004). Los sistemas que se basan en componentes químicamente definidos tienen la ventaja de que controlan de mejor manera los eventos celulares, la calidad de los medios y los aspectos sanitarios. También existen medios químicamente semi-definidos, eso quiere decir que la mayoría de los compuestos son químicamente definidos a excepción de la albúmina (Keskinetepe y Brackett, 1996), pero se sabe que la albúmina le confiere al medio de desarrollo la robusticidad para llevar a cabo el desarrollo embrionario (Thompson y Peterson, 2000).

Finalmente, las condiciones de cultivo pueden ser modificadas y esto puede provocar un impacto importante en la calidad de los embriones, pero no hay que olvidar que, la optimización en los medios de cultivo asegura mayor producción de blastocistos y esto sólo se produce mediante la mejora de la calidad del sistema de cultivo (Lonergan y Fair, 2008).

*Evaluación de los embriones.* En primer lugar, se realiza una evaluación del desarrollo embrionario. La clasificación de la etapa o estadio de desarrollo embrionario se determina observando a cada embrión con un microscopio estereoscópico a 40X. Cada embrión recibe un número del 1 al 9, de acuerdo con su desarrollo, de la siguiente manera: 1 = Óvulo. 2 = Embrión de 2 a 16 células. 3 = Mórula temprana. 4 = Mórula. 5 = Blastocisto temprano. 6 = Blastocisto. 7 = Blastocisto expandido. 8 = Blastocisto eclosionado. 9 = Blastocisto eclosionado expandido (Stringfellow y Givens, 2011).

Posteriormente, de acuerdo con su morfología, los embriones pueden clasificarse en cuatro categorías dependiendo de su calidad y cada embrión recibe un número del 1 al 4, lo que indica su grado de calidad. La clasificación morfológica se describe a continuación: Calidad 1 = Excelente. Calidad 2 = Bueno. Calidad 3 = Regular. Calidad 4 = No Transferible.

*Producción in vitro de embriones con semen sexado.* En el caso del uso combinado de técnicas reproductivas, una de las combinaciones más exitosas ha sido sin lugar a dudas la PIV y el sexado espermático. Históricamente siempre se ha considerado que el método más económico de usar el semen sexado en programas de reproducción en ganado bovino es a través de la producción in vitro de embriones, ya que con esta técnica se requiere una cantidad relativamente pequeña de espermatozoides. Combinando la aspiración folicular guiada por ultrasonido, es posible obtener grandes cantidades de embriones del sexo deseado, generados ya sea con espermatozoides seleccionados por el cromosoma “X” o “Y”. Se han realizado muchos estudios utilizando semen sexado para producir embriones in vitro. Se han descrito muchos aspectos relacionados con la producción in vitro de embriones bovinos con semen sexado, entre estos se encuentran estudios sobre los porcentajes de fertilización, de divisiones, de producción de blastocistos, de preñeces y las variaciones de resultados, entre toros (Wheeler et al., 2006).

*Gestaciones Gemelares.* La población mundial está creciendo muy rápidamente y junto con ella el aumento de la demanda de fuentes de proteínas. Aunque con frecuencia se discuten alternativas para el ganado, se espera que la demanda mundial para la proteína de origen animal en los próximos 30 años (2050) se duplique (FAO, 2019). Una alternativa a esta demanda podría ser la generación de gestaciones y de partos gemelares. En el pasado, las gestaciones gemelares tenían al freemartinismo como una de las principales limitantes. Dicha condición es el resultado de las conexiones vasculares entre los fetos macho y hembra en una gestación gemelar, que dan como resultado que la hembra sea estéril (Padula, 2005).

Actualmente, se aplican tecnologías reproductivas como la PIV y la transferencia de embriones, lo que resulta en un aumento eficiente en la producción de carne. Estas tecnologías asociadas al semen sexado pueden aumentar la producción de crías del sexo deseado, sin embargo, dos proble-

mas que pueden presentarse en las gestaciones gemelares son las pérdidas embrionarias y los abortos. Además, en el momento del nacimiento de las crías otro problema podrían ser los partos difíciles, distocias, o partos distócicos (Souza et al., 2020).

Debido a las mejoras en los sistemas de cultivo (exclusión de Suero Fetal Bovino, selección espermática, sistemas de cultivo continuos y menor producción de lípidos), los avances en la tecnología del sexado espermático (SexedULTRA-4M y UltraPlus), así como las nuevas tecnologías de selección de donadores de semen y de ovocitos (selección genómica y pruebas de progeñie) se cuenta con alternativas para corregir las dificultades que en el pasado ocasionaban las gestaciones y los partos gemelares.

*Resumen de los sistemas de Producción de embriones.* Recientemente, se han logrado grandes avances en los sistemas de PIV, en los que puede lograrse aproximadamente una producción de 40% de embriones (blastocistos), con respecto al número inicial de ovocitos madurados (Hasler y Barfield, 2014). La PIV de embriones es una técnica bien establecida en humanos y en varias especies domésticas y de laboratorio, con amplios usos en ciencias básicas y aplicadas (Bavister, 2002). Esta técnica permite transferir un gran número de embriones de padres seleccionados, solucionando problemas de fertilidad y expandiendo el potencial reproductivo (Kajihara et al., 1991). El desarrollo de ovocitos bovinos hasta la fase de blastocisto está limitado a una eficiencia de 30 o 40%. Hay evidencia que sugiere que las condiciones de cultivo pueden tener un impacto sobre el potencial de desarrollo de los embriones en etapa inicial, la calidad intrínseca de los ovocitos es el factor clave que determina la proporción de ovocitos que desarrollan a la fase de blastocisto (Sirard y Blondin, 1996).

## Investigaciones realizadas en México combinando técnicas reproductivas

En México se han realizado diversas investigaciones para aumentar la producción ganadera. A continuación, se enumeran algunas publicaciones sobre diferentes técnicas que han sido utilizadas en un esfuerzo para aumentar la productividad en el ganado bovino. En los casos que se citan a continuación los resultados han sido exitosos al combinar técnicas repro-

ductivas, aumentando los porcentajes de gestación, eliminando la condición de Freemartinismo y la incidencia de partos difíciles:

- 1.- Transferencia simultánea de dos embriones producidos in vitro con semen sexado, para la generación de gestaciones y partos gemelares (Romo *et al.*, 2012; Romo *et al.*, 2013a, 2013b).
- 2.- Comparación del semen sexado contra semen convencional para PIV (Álvarez-Gallardo *et al.*, 2022).
- 3.- Comparación del semen sexado con cromosoma “X”, “Y” y semen convencional para la PIV (Velázquez-Roque *et al.*, 2021; Álvarez-Gallardo *et al.*, 2022).
- 4.- Comparación del semen sexado con semen convencional para PIV a partir de ovocitos de becerras prepúberes de razas productoras de carne (Álvarez-Gallardo *et al.*, 2022).
- 5.- PIV con semen sexado a partir de ovocitos de hembras Holstein prepúberes obtenidos por aspiración folicular laparoscópica (LOPU) (Álvarez GH. *et al.*, 2023).

## Consideraciones finales

El uso combinado de técnicas reproductivas actuales, como la PIV, el semen sexado de última generación y la transferencia simultánea de dos embriones de sexo femenino, hasta el momento han demostrado una mejoría sustancial en programas de inseminación artificial, de superovulación y transferencia de embriones, así como de PIV. Sin embargo, hace falta llevar a cabo más proyectos de investigación para perfeccionar la combinación de técnicas y sin lugar a dudas el semen sexado SexedULTRA-4M y UltraPlus son una excelente herramienta que contribuye al mejoramiento genético tanto del ganado productor de leche como del productor de carne. Por último, en el corto plazo no debe sorprendernos ver en México la aplicación combinada de técnicas reproductivas avanzadas para apoyar a la recuperación de mamíferos en riesgo.

## Bibliografía

Álvarez-Gallardo, H., Kjelland, M. E., Pérez-Martínez, M., Villaseñor-González, F., & Romo-García, S. (2022). Evaluation of novel SexedULTRA-4M technology for in vitro bovine embryo production. *Animal Reproduction*, 19(1), e20220018.

Álvarez, G. H., Velázquez, R. A., Villaseñor, G. F., Ochoa, E. E., Kjelland, M. E., & Romo, G. S. (2023). *Producción de las Primeras crías en México con embriones obtenidos a partir de becerras prepúberes*. Congreso Nacional de Buiatría. Tlaxcala, Tlaxcala.

Bavister, B. D. (2002). *Early history of in vitro fertilization*. *Reproduction*, 124(2), 181-96. doi: 10.1530/rep.0.1240181.

Bols, P. E., Van Soom, A., Ysebaert, M. T., Vandenheede, J. M., & de Kruif, A. (1996). Effects of aspiration vacuum and needle diameter on cumulus oocyte complex morphology and developmental capacity of bovine oocytes. *Theriogenology*, 45(5), 1001- 14. doi: 10.1016/0093-691x(96)00028-3.

Cha, K. Y., & Chian, R.C. (1998). Maturation in vitro of immature human oocytes for clinical use. *Human Reproduction Update*, 4(2),103-20. doi: 10.1093/humupd/4.2.103.

Cha, K. Y., Koo, J. J., Ko, J. J., Choi, D. H., Han, S. Y., & Yoon, T. K. (1991). Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. *Fertility and Sterility*, 55(1), 109-13. doi: 10.1016/s0015-0282(16)54068-0.

Ducolomb, Y., Casas, E., Romo, S., Bonilla, E., & Betancourt, M. (2012). La fertilización in vitro y sus aplicaciones en producción animal y en investigación básica. En: *Avances en Biología de la Reproducción*. Edit: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. 1a Ed. ISBN 978-607-477-690-4. Pp. 83-106. México.

Espinosa, C., & Córdova, A. I. (2012). Sexing sperm of domestic animals. *Tropical Animal Health Production*, 45(1), 1-8.

FAO. 2019. <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/production.html>. Publicado en 2019

Gardner, D. K. (2008). Dissection of culture media for embryos: the most important and less important components and characteristics. *Reproduction, Fertility and Development*, 20(1), 9-18. doi: 10.1071/rd07160.

Garner, D. L., Gledhill, B. L., Pinkel, D., Lake, S., Stephenson, D., Van Dilla, M. A., & Johnson, L. A. (1983). Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. *Biology of Reproduction*, 28(2), 312-21. doi: 10.1095/biolreprod28.2.312.

Garner, D. L. (2001). Sex-Sorting Mammalian Sperm: Concept to Application in Animals. *Journal of Andrology*, 22(4), 519-26.

Garner, D. L., & Seidel Jr, G. E. (2003). Past, present and future perspectives on sexing sperm. *Canadian Journal of Animal Science*, 83, 375-384.

Garner, D. L., & Seidel Jr, G. E. (2008). History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology*, 69, 886-895.

Gledhill, B. L., Lake, S., Steinmetz, L. L., Gray, J. W., Crawford Dean, P. N., & Van Dilla, M. A. (1976). Flow microfluorometric analysis of sperm DNA content: effect of cell shape on the fluorescence distribution. *Journal Cell and Physiology*, 87(3), 367-75. doi: 10.1002/jcp.1040870312

González-Marin, C., Lenz, R. W., Gilligan, T. B., Evans, K. M., Gongora, C. E., Moreno, J. F., & Vishwanath, R. (2017). SexedULTRA, a new method of processing sex sorted bovine sperm improves post-thaw sperm quality and in vitro fertility. *Reproduction, Fertility and Development*, 29 (1), 204.

Hansen, P. J., & Block, J. (2004). Towards an embryocentric world: the current and potential uses of embryo technologies in dairy production. *Reproduction, Fertility and Development*, 16(1-2), 1-14. doi: 10.10371/RD03073.

Hasler, J. F., & Barfield, J. P. (2014). In Vitro Fertilization. In: *Bovine Reproduction* (Ed RM. Hopper). John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, USA. doi: 10.1002/9781118833971.ch81.

Horta, A. E. M., Marques, C. C., & Vasques, M. I. (1993). *Induction of twinning in beef cows by transfer of embryos cultured in vitro*. 5o Simposio Internacional de Reproducao Animal. Luso, Portugal. Vol 11:163-172.

INEGI. Anuario estadístico y geográfico de los Estados Unidos Mexicanos 2020. [http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos//prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva\\_estruc/aegeum/2015/702825077280.pdf](http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos//prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/aegeum/2015/702825077280.pdf). Publicado en 2020

Johnson, L. A., & Welch, G. R. (1999). Sex preselection: high-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology*, 52(8), 1323-41. doi: 10.1016/s0093-691x(99)00220-4.

Johnson, W. H., Etherington, W. G., de Rose, E. P., Wilton, J. W., & Savage, N. C. (1989). The production of twins in beef cattle utilizing embryo transfer technology. *Theriogenology*, 31, 206.

Kajihara, Y., Blakewood, E. G., Myers, M.W., Kometani, N., Goto, K., & Godke, R. A. (1991). In vitro maturation and fertilization of follicular oocytes obtained from calves. *Theriogenology*, 35, 220.

Keskintepe, L., & Brackett, B. G. (1996). In vitro developmental competence of in vitro-matured bovine oocytes fertilized and cultured in completely defined media. *Biology of Reproduction*, 55(2), 333-9. doi: 10.1095/biolreprod55.2.333.

Kobayashi, S. (2016). *Manual for Ovum Pick-Up and In Vitro Fertilization*. National Livestock Breeding Center, Japan. 27-46.

Lenz, R. W., Gonzalez-Marin, C., Gilligan, T. B., DeJarnette, J. M., Utt, M. D., Heiser, L. A., Hasenpusch, E., Evans, K. M., Moreno, J. F., & Vishwanath, R. (2017). SexedULTRA, a new method of processing sex sorted bovine sperm improves conception rates. *Reproduction, Fertility and Development*, 29 (1), 203-204.

Lonergan, P., & Fair, T. (2008). In vitro produced bovine embryos: dealing with the warts. *Theriogenology*, 1;69(1), 17-22. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.09.007.

Merton, J. S., de Roos, A. P., Mullaart, E., de Ruigh, L., Kaal, L., Vos, P. L., & Dieleman, S. J. (2003). Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology*, 15;59(2), 651-74. doi: 10.1016/s0093-691x(02)01246-3.

Moore, K., Rodríguez-Sallaberry, C. J., Kramer, J. M., Johnson, S., Wroclawska, E., Goicoa, S., & Niasari-Naslaji, A. (2007). In vitro production of bovine embryos in medium supplemented with a serum replacer: effects on blastocyst development, cryotolerance and survival to term. *Theriogenology*, 68(9), 1316-25. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.08.034.

O'Farrell, K., & Mee, J. (1990). Induced twinning in dairy cows. *Farmacology and Food Research*. 21:2. 25-27.

Oses, M. V., Teruel, M. T., & Cabodevila, J.A. (2009). Utilización de semen bovino sexado en inseminación artificial, transferencia embrionaria y fertilización in vitro. *Red Veterinary*, 20, 138-145.

Padula, A. M. (2005). *The freemartin syndrome: an update*. *Animal Reproduction of Science*, 87(1- 2),93-109. doi: 10.1016/j.anireprosci.2004.09.008.

Palma, GA. (2001). *Biotecnologías de la reproducción: Punción folicular (Ovum pick up, OPU) en la vaca*. *Reprobiotec*. Argentina. 185-224.

Rizos, D., Lonergan, P., Boland, M. P., Arroyo-García, R., Pintado, B., de la Fuente, J., & Gutiérrez-Adán, A. (2002). Analysis of differential messenger RNA expression between bovine blastocysts produced in different culture systems: implications for blastocyst quality. *Biology of Reproduction*, 66(3), 589-95. doi: 10.1095/biolreprod66.3.589.

Romo, S. *Avances Biotecnológicos aplicados a la reproducción bovina*. En: *Reproducción Bovina. Capítulo XVIII*. 2007. Editorial: UNAM-FMVZ. 1a Ed. ISBN: 978-970-32- 4568-0. México. Pp. 273-297.

Romo, G. S., López, B. B., Ordóñez, L. E. A., Peña, V. M., Esperón, S. A. E., Vergara, R. U., & Guzmán, D. C. (2012). *Partos gemelares en vacas cebuinas al transferir dos embriones frescos producidos in vitro con semen sexado*. Congreso Nacional de Buiatría. Mérida, Yucatán.

Romo, G. S., Ordóñez León, E. A., Peña Verduzco, M., López, B. B., Esperón, S. A. E., Vergara, R. U., Guzmán, D. C., Moreno, J. F., & Kjelland, M. E. (2013<sup>a</sup>). *Partos gemelares en vacas por transferencia de dos embriones de sexo femenino producidos por fertilización in vitro con semen sexado*. Congreso Internacional de Biotecnologías Reproductivas. Veracruz, Veracruz.

Romo, S., Ordóñez-León, E. A., Peña-Verduzco, M., López, B. B., Esperón, S. A. E., Moreno, J. F., & Kjelland, M. E. (2013b). Sex selected multiparity: a model assisted reproductive technology. *Reproduction, Fertility and Development*, 25(1), 285-286.

SAGARPA. *Bovinos Carne y Leche Población Ganadera 2022*. <http://www.siap.gob.mx/opt/poblagand/bovino.pdf>. Publicado en 2023

Schenk, J. L., Suh, T. K., Cran, D. G., & Seidel Jr, G. E. (1999). Cryopreservation of flow-sorted bovine spermatozoa. *Theriogenology*, 52(8), 1375-91. doi: 10.1016/s0093-691x(99)00224-1.

Seidel Jr, G. E. (2009). Sperm sexing technology. The transition to commercial application. An introduction to the symposium "Update on sexing mammalian sperm". *Theriogenology*, 71, 1-3.

Seidel Jr, GE, & Garner, D L. (2002). Current status of sexing mammalian spermatozoa. *Reproduction*, 124, 733-743.

Seidel, G.E. Jr, Schenk, J. L., Herickhoff, L. A., Doyle, S. P., Brink, Z., Green, R. D., & Cran, D. G. (1999). Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, 52(8), 1407- 20. doi: 10.1016/s0093-691x(99)00226-5.

Silva-Santos, K. C., Santos, G. M., Siloto, L. S., Hertel, M. F., Andrade, E. R., Rubin, M. I., Sturion, L., Melo-Sterza, F. A., & Seneda, M. M. (2011). Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. *Theriogenology*, 76(6), 1051-7. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.05.008.

Sirard, M.A., & Blondin, P. (1996). Oocyte maturation and IVF in cattle. *Animal Reproduction Science*, 42, 417-426. doi: 10.1016/0378-4320(96)01518-7 80

Souza, J.F., Lubov, R., Paiva, C. J. F., Tavora, N. F. C., Santos, R. R., & Figueiredo, J. R. (2020). Managing embryonic and calves losses after twin pregnancies induced by transfer of *in vitro*-produced Nellore embryos. *Zygote*, 28(4), 333-336. doi: 10.1017/S0967199419000790.

ST Genetics. (2023). *Increased Pregnancy Rates of Gender-Sorted Semen Confirmed*. <https://www.stgen.com/article/article.aspx?code=9256&language=english&category=2>

Stringfellow, D. A., & Givens, M. D. (2011). Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones: Una guía de procedimientos e información general sobre el uso de tecnología para transferencia de embriones que enfatiza sobre los procedimientos sanitarios. *International Embryo Transfer Society*, Illinois, USA, 4ª ed: 95-107.

Thomas, J. M., Locke, J. W. C., Vishwanath, R., Hall, J. B., Ellersieck, M. R., Smith, M. F., & Patterson, D. J. (2017). Effective use of SexedULTRA sex-sorted semen for timed artificial insemination of beef heifers. *Theriogenology*, 98, 88-93. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.03.018.

Thompson, J. G., & Peterson, A. J. (2000). Bovine embryo culture in vitro: new developments and post-transfer consequences. *Human Reproduction*, 15(5), 59-67. doi: 10.1093/humrep/15.suppl\_5.59.

Velázquez-Roque, A., Álvarez-Gallardo, H., Kjelland, M., Pérez-Martínez, M., Villaseñor-González, F., & Romo, S. (2021). Comparison of SexedULTRA-4M “X” and “Y” chromosome-bearing semen versus conventional for the in vitro production of bovine embryos. *Reproduction, Fertility and Development*, 34(2), 268-268.

Velázquez, R. A., Álvarez, G. H., Kjelland, M., Villaseñor, G.F., Ariza, G., & Romo, S. (2019). In vitro embryo production using prepubertal calf oocytes with conventional semen and sexed semen ULTRA-4M. *Reproduction, Fertility and Development*, 32 (1), 162.

Viana, J. H. M. (2022). 2021 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. In: *Embryo Technology Newsletter*, 40(4), 22-40.

Vishwanath, R., & Moreno, J. F. (2018). Review: Semen sexing – current state of the art with emphasis on bovine species. *Animals* 12:s1, 1-12.

Wheeler, M. B., Rutledge, J. J., Fischer-Brown, A., VanEtten, T., Malusky, S., & Beebe, D. J. (2006). Application of sexed semen technology to in vitro embryo production in cattle. *Theriogenology*, 65(1), 219-27.

## Capítulo 9

### Vitrificación de ovocitos de Venado Cola Blanca como estrategia para su conservación

Verónica Alejanda Rubio Santillanes

Javier Antillón Ruiz

Salvador Romo García

Felipe Alonso Rodríguez Almeida

Horacio Álvarez Gallardo

José Luis Rodríguez Suástegui

Ernesto Hernández Pichardo

Patricia Rodríguez Santillán

Guadalupe Adilia Delgado Tiburcio

Michael Edward Kjelland



## Introducción

El uso de técnicas reproductivas en animales silvestres se ha incrementado significativamente en los últimos años, ya sea con fines de conservación o con un enfoque en la producción. Algunas de estas biotecnologías incluyen la obtención de semen mediante electroeyaculación o *post mortem*, la sincronización de estros, la inseminación artificial (IA) y la transferencia de embriones (TE), las cuales han sido objeto de investigación en cérvidos. Debido a la alta demanda en los programas para ranchos cinegéticos y la disponibilidad durante la época de cacería, dichas biotecnologías han demostrado ser métodos efectivos para programas de conservación y producción (Hernández-Pichardo et al., 2017).

Por otra parte, el procesamiento de semen, vitrificación de ovocitos y fertilización *in vitro* (FIV) permiten la selección y uso de animales que sean genéticamente superiores para incrementar parámetros productivos que son de importancia económica, la conservación de la especie y disminución del riesgo de patologías (Clemente-Sánchez et al., 2017).

### *Avances en Biotecnologías Reproductivas en Mamíferos*

En los últimos años, ha habido un gran avance en el campo de las biotecnologías reproductivas. Algunas de las más significativas incluyen la IA y la TE. La genética molecular desempeña un papel fundamental en el desarrollo de dichas biotecnologías, sirviendo como base para su mejora continua. El desarrollo de los procedimientos para clonación utilizando células somáticas como recurso genómico es uno de los logros más destacados, lo que abre nuevas perspectivas en las posibilidades de reproducción en animales de alta calidad (Niemann y Seamark, 2018).

En México y en Estados Unidos de América, el mejoramiento genético ha impulsado el desarrollo de diversas tecnologías para el ganado bovino. Las pruebas genéticas ayudan a una mejor selección de ganado por genes heredables que mejoren la producción y calidad, tanto para el productor como para el consumidor. La aplicación y los beneficios de estas tecnologías, como los protocolos de superovulación, la producción de embriones *in vivo* e *in vitro*, la TE, la congelación y la vitrificación de embriones, la colec-

ción y el procesamiento de semen, forman parte de un importante papel en el presente y futuro de la industria del ganado bovino (Romo, 2007; Tríbulo et al., 2011; Looney y Pryor, 2012 ) así como en la cría de ovinos y caprinos (Fernández-Reyez et al., 2012; Fonseca et al., 2016).

La TE en pequeños rumiantes se lleva a cabo desde la década de los años 1930 mediante procedimientos quirúrgicos. Actualmente, se puede llevar a cabo por diferentes métodos como son laparoscopia, cirugía y técnica trans-cervical, con mejoras continuas en los procedimientos para aumentar el porcentaje de embriones obtenidos y reducir los efectos secundarios del procedimiento (Fonseca et al., 2016).

### *Biotechnologías Reproductivas en Cérvidos*

El uso de técnicas reproductivas en animales silvestres ha experimentado un significativo aumento en los últimos años, tanto con fines de conservación como en situaciones en que se ha dado prioridad al desarrollo de ranchos para la crianza de cérvidos, producción de carne, venado, velvet y trofeos de caza. El ciervo rojo (*Cervus elaphus*) ha sido el que ha captado mayor atención de los productores e investigadores debido a la alta disponibilidad de ejemplares (Martínez et al., 2008).

Existen bancos de recursos genéticos (GRBs, por sus siglas en inglés: “Genetic Resource Banks”), que, en combinación con técnicas de reproducción asistida, ofrecen beneficios en los programas de conservación de especies para preservar la biodiversidad y ayudar a la conservación de especies en peligro de extinción (García-Macías et al., 2006).

Al manejar a los sementales para la obtención de semen, es posible detectar a aquellos que son infértiles o tienen baja calidad de semen, lo que ayuda a mejorar las tasas de preñez. El uso de la IA está directamente asociado a la sincronización de estros y ovulación, lo que resulta en mejores resultados. Esto es factible con una buena alimentación en el hato y un medio ambiente propicio para el parto y la crianza de cervatos (Clemente-Sánchez et al., 2017).

Las biotecnologías de reproducción asistida, como la superovulación y la TE, tienen como finalidad acelerar el mejoramiento genético. Desde los años 70s, el Ciervo Rojo, junto con algunas subespecies, han sido manejados en

unidades en las que su producción ha incrementado rápidamente, convirtiéndose en un negocio redituable en la industria. En base a ello, diversos investigadores han mostrado cada vez mayor interés en mejorar la eficiencia reproductiva y el uso de las biotecnologías en cérvidos, buscando su futura aplicación a especies en peligro de extinción. Por otro lado, en un estudio realizado por Locatelli et al. (2005), se utilizaron gametos de ciervo rojo para la producción de embriones *in vitro* utilizando la metodología de animales domésticos, con el propósito de determinar las características específicas de la especie y así mejorar la técnica para cérvidos, incluyendo la evaluación de las características espermáticas, los métodos de capacitación y los medios de preservación utilizados con éxito.

### *Estructura y Composición del Ovocito*

El ovocito de un mamífero consiste en el citoplasma rodeado por una membrana de plasma, y está envuelto por una capa externa transparente conocida como zona pelúcida (ZP). La ZP está compuesta de glicoproteínas. Se ha encontrado que ejerce un importante papel biológico en la ovogénesis, la fertilización, el desarrollo y la eclosión, además proporciona protección a los ovocitos y a los embriones contra microorganismos presentes en el útero antes de la implantación (Choi et al., 2015).

### *Maduración*

En las hembras, la vida fértil de los ovocitos es el periodo en el que pueden dar inicio al desarrollo embrionario. En mamíferos, este periodo se considera corto, de 6 a 12 h. Los problemas asociados con el envejecimiento del ovocito post-ovulación incluyen la desorganización de los microtúbulos meióticos, la pérdida de alineación de cromosomas en la metafase y la migración cortical alterada. Estos problemas se asocian a una oscilación en los patrones de los iones de calcio y niveles de glutatión, provocando un ciclo celular más corto. La cinética de la maduración del ovocito es un factor crucial para el futuro desarrollo embrionario. En bovinos, la maduración se completa aproximadamente 16 h después de la aparición del primer cuerpo polar, siendo un tiempo óptimo para la fertilización *in vitro*, una vez finalizada la meiosis (Berg et al., 2002a).

El tiempo de maduración del ovocito en cérvidos ha recibido poca atención. Sin embargo, en ovocitos de Ciervo Rojo, se han recuperado ovocitos en Metafase II del folículo entre las 18 y 20 h después de darse el pico de hormona luteinizante. Cuando se trabaja con ovocitos madurados *in vitro*, este proceso toma entre 20 y 24 h. La diferencia en el tiempo de Maduración *in vitro* (MIV) de los ovocitos entre especies para completar la maduración nuclear es notable, ya que, en bovinos es de 24 h, en ovinos de 26 a 30 h y en caprinos de 24 a 32 h (Berg *et al.*, 2002a).

Un ovocito se considera maduro cuando llega a la metafase de la segunda división meiótica (MII). Los ovocitos en vesícula germinal son considerados inmaduros, completan la primera división meiótica con la extrusión del primer cuerpo polar sin pasar por el proceso de la interfase, llegando a la metafase II. Cuando el ovocito maduro es fertilizado, completa la segunda meiosis y por expulsión del segundo cuerpo polar se convierte en una célula haploide (Rodríguez-Suástegui *et al.*, 2012).

La comunicación entre las células cumulares y el ovocito es un aspecto crítico e importante durante el proceso de maduración. Esta comunicación involucra señales en respuesta a los factores producidos por el ovocito, lo que estimula la ruptura de la vesícula germinal y permite completar la maduración nuclear del ovocito (Shirazi *et al.*, 2010).

En el caso del macho, la maduración del espermatozoide ocurre a medida que atraviesa por una serie de cambios estructurales y bioquímicos mientras pasa por el epidídimo, donde adquiere la movilidad necesaria para poder ser capaz de realizar una fertilización. Dichos cambios están relacionados con la fisiología celular y bioquímica del espermatozoide, permitiendo llevar a cabo la reacción acrosomal, estos cambios afectan las proteínas de la membrana plasmática, los lípidos, los fosfolípidos y su distribución (Rodríguez-Suástegui *et al.*, 2012; Hernández-Pichardo *et al.*, 2017).

Una característica importante que presenta el espermatozoide es su hipermotilidad, junto con un flujo de iones de hidrógeno que aumenta el pH intracelular, alterando el metabolismo y provocando fosforilaciones de proteínas. La hipermotilidad se asocia con el contacto con las células del epitelio de oviducto, importante para el transporte de los espermatozoides en el útero y en el oviducto. Una vez que el espermatozoide está listo, elimi-

na moléculas de su membrana plasmática, exponiendo los receptores que permiten la unión con la ZP del ovocito. La reacción acrosomal comienza cuando el espermatozoide interactúa con las células cumulares, liberando la enzima hialuronidasa, que permite a los espermatozoides atravesar la ZP (Rodríguez-Suástegui et al., 2012).

### ***Fertilización***

El lograr un embrión de alta calidad depende de factores y características óptimas que permiten a los gametos de la hembra y del macho unirse en el proceso de fertilización. Para que un desarrollo embrionario sea viable, se deben llevar a cabo diversos procedimientos biológicos complejos y coordinados. Un ovocito maduro solo se puede obtener de un folículo dominante para que sea fecundado por un espermatozoide que cumpla con características como capacitación, hiperactividad y reacción acrosomal. Después de que el ovocito es fecundado, se producirá un cigoto que debe sobrevivir bajo un ambiente rico en nutrientes y a una temperatura proporcionada por el oviducto y el útero para su desarrollo, obteniendo una cría al final de la gestación. Una vez que el espermatozoide logra penetrar la ZP y fusionarse con el oolema del ovocito, se desencadena la activación de éste. Esto permite completar el proceso de maduración meiótica del ovocito, formar los pronúcleos y secretar gránulos corticales para evitar la polispermia. Cuando el ovocito es fertilizado, continúa con su segunda división meiótica hasta completar y expulsar el segundo cuerpo polar. Cuando el núcleo del espermatozoide entra en contacto con el oolema, la membrana nuclear se desintegra y el núcleo comienza a descondensarse (Rodríguez-Suástegui et al., 2012).

### ***Medios para la Producción in vitro de Embriones***

Los medios que tienen más éxito en el proceso de producción de embriones *in vitro* en cada etapa, ya sea maduración, fertilización y cultivo *in vitro* en varias especies son medios que contienen suero, gonadotropinas, estradiol, hormona del crecimiento, incluyendo factor de crecimiento epidérmico y otros suplementos. El propósito de estos medios es replicar las condiciones del útero *in vivo*, promoviendo así el desarrollo embrionario (Grazul-Bilska et al., 2003).

La importancia de la composición de estos medios radica en su capacidad para activar el genoma embrionario, lo que aumenta la actividad metabólica, la síntesis de proteínas, la captación de carbohidratos y el consumo de oxígeno (Rodríguez-Suástegui *et al.*, 2012).

En la MIV ovocitos de ovinos y caprinos, se ha utilizado el fluido folicular de folículos mayores a 4 mm como suplemento en medio de maduración TCM-199, junto con 100 ng de FSH ovina, donde se demuestra un efecto positivo en la maduración citoplasmática, siempre y cuando los folículos no estén atrésicos o sean de folículos estimulados con gonadotropinas. Este mismo medio se ha empleado con éxito en la MIV de ovinos y de venados Sika. En condiciones similares, la MIV de ovinos y caprinos ha resultado en la extrusión del primer cuerpo polar (MII) entre 16 y 24 h después de iniciar la maduración (Cognié *et al.*, 2004).

En el caso de los cérvidos, se ha incrementado el desarrollo de técnicas de reproducción asistida, con un enfoque en mejorar los protocolos existentes para la producción de embriones *in vitro*. El primer paso, que implica la maduración de ovocitos *in vitro*, ya se ha logrado con éxito en el Ciervo Rojo Ibérico y en venado Sika en laboratorio. Con fines de investigación, los ovocitos se obtienen de ovarios *post-mortem*, que sirven como fuente de ovocitos inmaduros. Al comparar con otras especies de cérvidos, el medio utilizado para MIV se enriquece con FSH, LH y varios aditivos, como el estradiol, el fluido folicular y el suero fetal bovino (Berg *et al.*, 2002b; Siraaronrat *et al.*, 2010; Macías-García *et al.*, 2017).

### ***Maduración in vitro de Ovocitos***

La colección de ovocitos para la producción de embriones *in vitro* generalmente se realiza a partir de folículos en crecimiento, cuando los ovocitos se encuentran en la etapa de Profase I. Para el cultivo celular estandarizado *in vitro*, es esencial crear un medio que permita la reanudación meiótica de los ovocitos, como si estuvieran a punto de ser ovulados, buscando la progresión a la etapa de Metafase II. Sin embargo, es importante destacar que la maduración de ovocitos *in vitro* difiere con lo que ocurre *in vivo*. Por lo tanto, es esencial disponer de ovocitos viables y competentes para el éxito de la MIV (Wani *et al.*, 2012).

Se ha observado que los ovocitos madurados *in vitro* muestran tasas de división o clivaje más favorables cuando los ovocitos fueron madurados por 20 a 24 h en lugar de 16 o 28 h. Estas diferencias en el tiempo de maduración nuclear, se deben en parte a que los ovocitos se ven afectados por los suplementos utilizados en los medios *in vitro* (Berg *et al.*, 2002a). En el caso de alpacas, se ha informado de variaciones en el tiempo necesario para que los ovocitos logren llegar a Metafase II, con valores que oscilan entre 24, 26 y hasta 42 h en el tiempo requerido para la MIV del ovocito (Ruiz *et al.*, 2013). Los avances en biotecnologías en cérvidos requieren más información básica de los gametos y un medio ambiente óptimo de cultivo buscando promover la maduración, la FIV y el desarrollo embrionario (Siriaronrat *et al.*, 2010).

Los ovocitos de mamíferos son fertilizados en la Metafase de la segunda división meiótica. La maduración nuclear involucra principalmente la segregación cromosomal, en cambio la maduración citoplasmática involucra la reorganización y almacenamiento de ARNm, proteínas, factores de transcripción que participan en el proceso de maduración, fertilización y embriogénesis temprana (Ferreira *et al.*, 2009).

## Maduración *In Vitro* de Ovocitos Vitrificados

Se han requerido años de investigación, para poder mejorar las técnicas de maduración de ovocitos vitrificados de diferentes especies y llevar a cabo la FIV para la producción de embriones, con el fin de su criopreservación o transferencia a una hembra y así poder obtener una cría. El desarrollo de la criopreservación de embriones ha representado un avance significativo en la biotecnología, especialmente en el almacenamiento de embriones provenientes de especies domésticas como bovinos, ovinos, porcinos, entre otros. Sin embargo, los ovocitos de mamíferos siguen presentando uno de los mayores desafíos debido a su sensibilidad al enfriamiento y a la congelación (Fernández-Reyez *et al.*, 2012).

### *Fertilización In Vitro*

La producción de embriones *in vitro* involucra tres etapas, que son la maduración de ovocitos *in vitro*, la FIV y el cultivo *in vitro* de embriones hasta que se formen las mórulas y blastocitos. Para cada etapa se requieren medios

de cultivo que se asemejen al entorno que pudieran tener bajo condiciones *in vivo*, de acuerdo a cada etapa y a sus diferentes requerimientos. El éxito de dicho procedimiento involucra factores como técnicas utilizadas para la maduración y la fertilización de los ovocitos, así como la capacitación de las células espermáticas. Por lo tanto, la composición de los medios de cultivo debe cubrir los requerimientos para las células en cada etapa (Cognié et al., 2004; Rodríguez-Suástegui et al., 2012).

El tiempo de maduración de los ovocitos mamíferos varía entre especies, algunos necesitan mayor tiempo en maduración que otros, siendo que hay especies que no se asemejan, por ejemplo, en porcinos puede requerir 44 h de incubación, mientras que en ovinos el proceso puede completarse en 24 h (Fernández-Reyes et al., 2012).

La predicción precisa del momento de la ovulación y la fertilización en mamíferos no es sencilla. Sin embargo, los procedimientos *in vitro* permiten coordinar la penetración del espermatozoide en el ovocito. Además, la producción *in vitro* ofrece ventajas al proporcionar recursos abundantes y de bajo costo, como ovocitos madurados (siendo de ovarios obtenidos en rastros o de cacería), cigotos y embriones. Como resultado se obtienen conocimientos nuevos en algunas investigaciones de la fisiología, así como el surgimiento de biotecnologías nuevas como el sexado en embriones, la inyección intracitoplasmática de espermatozoides, la transferencia nuclear y la transgénesis (Comizzoli et al., 2000b; Cognié et al., 2004).

### *Procesamiento de Semen*

Como se ha descrito anteriormente, uno de los métodos para el procesamiento del semen es la colección *post mortem* de espermatozoides de epidídimo. Sin embargo, a pesar de su éxito en la reproducción asistida, los espermatozoides obtenidos del epidídimo presentan limitaciones, que incluyen la necesidad de técnicas específicas para su congelación. Existen tres métodos principales para la colección de animales *post mortem*, uno es cortar el epidídimo en un medio de cultivo específico, principalmente en pequeñas especies. El segundo método consiste en que, con un bisturí o aguja se pincha el epidídimo, se extraen los espermatozoides y se coloca en un medio especial; ambos métodos requieren centrifugación para eliminar

restos de tejido. El tercer método, preferentemente utilizado en Ciervo Rojo, involucra el enjuague, donde en el vaso deferente se conecta una jeringa en la cual se inyecta aire y en la cola se hace una pequeña incisión para que las células espermáticas drenen y de esta forma se reduzca la contaminación para obtener una mejor calidad de muestra (Saenz, 2007).

### **Vitrificación**

La vitrificación se define como un proceso de solidificación similar al estado vítreo. Implica el uso de altas concentraciones de crioprotectores y una tasa de enfriamiento ultra rápida alcanzando altos rangos de enfriamiento de 16,700°C/min (Criado-Scholz, 2012). Es un método que ha demostrado ser una técnica capaz de conservar la integridad de las estructuras de la célula (Gastal *et al.*, 2018). Este procedimiento, involucra un aumento extremo en la viscosidad de la solución crioprotectora eliminando la formación de cristales, siendo la principal lesión causada por congelamiento, por lo que se ha convertido en una alternativa para mejorar la criotolerancia en embriones producidos *in vitro*.

El uso de altas concentraciones de crioprotectores puede ser tóxico o provocar un estrés osmótico a los embriones. La única forma de inducir la vitrificación es utilizando bajas concentraciones de los crioprotectores y aumentar la velocidad de enfriamiento (Looney y Pryor, 2012).

Sin embargo, el éxito de la vitrificación depende de la sensibilidad de la célula y su etapa de desarrollo (estado meiótico). Se ha demostrado que en ovocitos en Metafase II, en humanos, bovinos, porcinos y equinos aumenta la capacidad de recuperación del daño por la vitrificación en comparación con los que se encuentran en estado de Vesícula Germinal (Fernández-Reyez *et al.*, 2012).

La criopreservación de gametos y embriones se ha convertido en una herramienta crucial para la preservación de material genético en diversas especies. La criopreservación de ovocitos facilita el almacenamiento de genética de animales de alto valor y resuelve limitaciones asociadas con la estacionalidad y la fertilidad. Sin embargo, el desarrollo *in vitro* de ovocitos criopreservados aún tiene porcentajes bajos en diversas especies, dentro de las que se incluye al búfalo. Algunos factores que influyen en los porcenta-

jes de éxito son el tamaño, el estado de maduración, las características de la membrana plasmática, la calidad del ovocito, la presencia o ausencia de las células cumulares, la especie, así como los procedimientos de criopreservación (El-Shalofy et al., 2017).

Los daños causados por la criopreservación se pueden clasificar en diferentes rangos de temperaturas. Es decir, de 15 °C a -5 °C ocurren las lesiones por enfriamiento, las cuales implican cambios estructurales como gotas lipídicas y membranas ricas en lípidos, siendo alteraciones parcialmente irreversibles. De -5 °C a -80 °C, en el momento de la formación de hielo extra e intracelular se producen cambios mecánicos sobre todas las estructuras. En el rango de -50 °C a -150 °C, por el efecto mecánico de la solución solidificada, hay un alto riesgo de que la ZP se rompa. La fase de almacenamiento a temperaturas inferiores a -150 °C (normalmente a -196 °C) se considera la menos peligrosa; solo la desvitrificación accidental se considera el daño más frecuente. Por lo tanto, la vitrificación reduce los daños en el rango de temperatura de +15 °C a -5 °C (Izaguirre y Díez, 2012).

### *Crioprotectores*

La criopreservación permite un almacenamiento a largo plazo de células y tejidos viables; lo que representa una ventaja significativa en el área de reproducción al aplicar estas técnicas en ovocitos y embriones (Begin et al., 2003).

Los crioprotectores cumplen la función de estabilizar proteínas y proteger las células al ser sometidas a un proceso de enfriamiento. La interacción crioprotector-proteína depende de los cambios de temperatura. Estos crioprotectores pueden producir dos tipos de toxicidad: directa (bioquímica) y osmótica. La toxicidad bioquímica, interfiere con las bombas iónicas y solubiliza los lípidos de membrana, dependiendo de la concentración, temperatura y la combinación de crioprotectores. Por otro lado, la toxicidad osmótica es debida a cambios de volumen en la célula, puesto que se debe regular la proporción de agua para mantener y estabilizar la membrana. En consecuencia, las lesiones de la membrana celular están relacionada con el estrés osmótico (Zárate, 2006).

Se han utilizado diferentes crioprotectores como el Etilenglicol (EG), Glicerol (GLY), Dimetilsulfóxido (DMSO), Propilenglicol y 1,2-Propanediol (PROH),

los cuales han sido usados en diferentes combinaciones para la vitrificación de ovocitos y embriones de mamíferos (Zárate, 2006; El-Shalofy *et al.*, 2017).

Los crioprotectores se clasifican en dos tipos: permeables y no permeables (Izaguirre y Díez, 2012). Los crioprotectores permeables, como el EG, destacan por su capacidad de penetración y su baja toxicidad (El-Shalofy *et al.*, 2017). El DMSO ha sido utilizado con éxito tanto sólo como en combinación con otros crioprotectores para la vitrificación de ovocitos en diferentes especies, incluyendo búfalos y bovinos (El-Shalofy *et al.*, 2017). La función de los estos crioprotectores es ingresar a la célula y reemplazar el agua intracelular para modificar sus características fisicoquímicas y su respuesta al descenso de temperatura. Los mecanismos de acción incluyen la disminución del punto de congelación de la suspensión y la prevención de la formación de cristales de hielo (Zárate, 2006; Izaguirre y Díez, 2012).

Los crioprotectores no permeables son aquellos que reducen el agua intracelular por efecto osmótico. Cuando una célula entra en contacto con una solución de alta concentración de estos crioprotectores, la célula se deshidrata para contrarrestar la diferencia de presión osmótica. Estos crioprotectores se dividen en dos categorías: los de bajo peso molecular, que incluyen monosacáridos, y disacáridos como la trehalosa (TH), un disacárido que ha demostrado proteger las células con resultados satisfactorios (Caturra-Sánchez, *et al.*, 2017), así como la sacarosa (SC) (uno de los más empleados actualmente), glucosa y galactosa. Por otro lado, los crioprotectores de alto peso molecular son polímeros como el Polivinilalcohol, el Polietilenglicol, el Ficoll y la Polivinil Pirrolidona (Zárate, 2006; Izaguirre y Díez, 2012).

El crioprotector debe ser lo menos tóxico posible para las células. Es importante tener presente que la toxicidad es dependiente de la temperatura, especialmente con los que son permeables. Algunas de las estrategias para disminuir los efectos tóxicos de las soluciones para vitrificación, es tener en cuenta que al emplear crioprotectores se debe usar aquellos de baja toxicidad y alta permeabilidad, uno de los principales es el Etilenglicol, utilizado en varias especies. El uso de dos o tres crioprotectores y la sinergia entre ellos deben ser estudiados antes de combinarlos. Por lo tanto, el tiempo de exposición a los crioprotectores debe ser gradual y ascendente (Izaguirre y Díez, 2012).

## Métodos de Vitricación

Durante el proceso de vitricación, el estado meiótico durante la criopreservación puede afectar la viabilidad y el desarrollo de ovocitos. En el caso de los ovocitos maduros en Metafase II (MII), se han observado anomalías en el huso meiótico, lo que provoca la desalineación cromosómica y la desorganización de la red de microfilamentos. Por otro lado, en ovocitos inmaduros, como los que se encuentran en la etapa de Vesícula Germinal, carecen de un huso meiótico organizado, por lo que, la criopreservación de ovocitos en este estadio pudiera ser una alternativa para evitar dañar el huso meiótico (El-Shalofy et al., 2017).

La vitricación de ovocitos, tanto maduros como inmaduros, se ha llevado a cabo en diferentes especies con resultados variables. Sin embargo, aún no es reconocido un procedimiento bien establecido debido a su novedad y falta de información (Fernández-Reyes et al., 2012).

La relación superficie/volumen es importante, ya que, debe existir un flujo adecuado de agua al exterior de la célula o entrada del crioprotector al usar aquellos que son permeables. Además, la presión osmótica de ambos lados del oolema es de suma importancia, por lo que es esencial conocer la tolerancia límite a las variaciones osmóticas y de volumen del ovocito; de este modo, esto ayudará a utilizar sustancias crioprotectores en concentración óptima. Se considera que los cambios en el volumen del ovocito no deben sobrepasar el 30 %. Algunos problemas asociados a la congelación incluyen la integridad de las fibras y microtúbulos del huso meiótico, los gránulos corticales, y el daño a la ZP que puede volverse más dura, reduciendo la tasa de fertilización (Zárate, 2006).

Para lograr tasas de enfriamiento extremadamente rápidas, se han creado diversos métodos y dispositivos que reducen el volumen de las soluciones de vitricación, estos métodos incluyen Cryotop, Cryoloop, Superficie Sólida, Malla de Nylon, OPS (por sus siglas en inglés Open Pulled Straw) y CPS (por sus siglas en inglés Closed Pulled Straw; El-Shalofy et al., 2017).

Uno de estos métodos es la vitricación en Superficie Sólida (SSV, por sus siglas en inglés), la cual cuenta con algunos beneficios, como el no requerir un envasado, sino que son microgotas; por otra parte, se realiza mediante

la reducción ultra rápida de la temperatura en una superficie de metal fría (10,000 °C/min; (Dinnyés *et al.*, 2000; Begin *et al.*, 2003; Somfai *et al.*, 2010). La limpieza adecuada de la superficie es crucial para facilitar el manejo de las micro gotas estériles (Dinnyés *et al.*, 2000; Begin *et al.*, 2003; Zárate, 2006).

**La vitrificación de ovocitos de mamíferos**, especialmente en bovinos sigue siendo una de las retos más grandes a pesar de los esfuerzos realizados en la investigación, debido a la sensibilidad de los ovocitos a bajas temperaturas (Dinnyés *et al.*, 2000). Los principales factores que afectan la criopreservación exitosa de embriones mamíferos son: la especie, el tipo y concentración de crioprotectores, las tasas de enfriamiento y desvitrificación, así como la etapa de desarrollo en la que los embriones son vitrificados (Shirazi *et al.*, 2010). En porcinos, la criopreservación estándar es un procedimiento realizado principalmente en la etapa de blastocitos, donde se han obtenido crías de embriones vitrificados. Sin embargo, en los ovocitos porcinos no se ha obtenido el mismo resultado positivo. Lo anterior, se asocia a tamaño del ovocito porcino, ya que, puede existir una proporción inadecuada de la superficie respecto al volumen. Los ovocitos porcinos, son más susceptibles a la hipotermia por la mayor cantidad de lípidos citoplasmáticos que contienen, esto en comparación con otros de ovocitos mamíferos (Galeati *et al.*, 2011). Este contraste sirve como comparativo para la criopreservación de ovocitos en el venado Cola Blanca (Rubio *et al.*, 2023).

### *Calentamiento o Desvitrificación*

El calentamiento (desvitrificación) debe llevarse a cabo rápidamente. Las muestras se sumergen de forma casi inmediata en soluciones para desvitrificación (entre 39-41 °C). Es necesario realizar un proceso de eliminación de la solución vitrificante y a la vez de rehidratación celular; para ello, la desvitrificación se lleva a cabo en varias etapas, sometiendo a la célula vitrificada a soluciones con concentraciones decrecientes de criopreservadores no permeables para que por efecto osmótico los mismos salgan de la célula, evitando que haya cambios hídricos bruscos (Izaguirre y Díez, 2012).

## Fertilización *In Vitro* de Ovocitos Criopreservados

El uso de la FIV en diversas especies de fauna silvestre es de gran importancia, especialmente cuando se dispone de un número limitado de pajillas de espermatozoides obtenidas *post mortem* de un semental de alto valor genético. La FIV permite maximizar el uso del semen para fertilizar cientos de ovocitos con una sola pajilla. Los protocolos de maduración y FIV en cérvidos se han adaptado a partir de los utilizados en especies domésticas (Cognié et al., 2004; Locatelli et al., 2006).

Por lo tanto, se puede usar semen obtenido del epidídimo de cérvidos y ser conservado bajo las mismas condiciones que en animales domésticos. Al llevar a cabo grandes programas de restauración genética de especies en peligro de extinción, se puede usar producción de embriones *in vitro* y utilizar la transferencia de embriones a hembras receptoras (Cognié et al., 2004).

En el caso del Ciervo Rojo, se ha logrado obtener un bajo porcentaje de embriones que alcanzan el estadio de blastocito utilizando un medio suplementado con fluido de oviducto. En venado Sika, los embriones producidos *in vitro* no han logrado llegar a blastocitos, lo que sugiere que los requerimientos específicos o la sensibilidad ambiental de los embriones de cérvidos pueden ser más exigentes (Locatelli et al., 2006).

El medio de capacitación que contiene suero de ovino en estro, promueve el flujo del colesterol de espermatozoides frescos en el carnero después de 1-5 h de incubación, así como la reacción acrosomal en la superficie de la ZP de los ovocitos. De los espermatozoides capacitados, se agregan 50  $\mu\text{L}$  a la gota de fertilización, para una concentración final de  $1 \times 10^6$  espermatozoides por mL, se incuban por 17 horas a 39 °C a una atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub> (Cognié et al., 2004).

En el Ciervo Rojo y venado Axis, los espermatozoides pueden ser capacitados *in vitro*, agregando heparina al medio de FIV. A pesar de que las estadísticas son similares en Ciervo Rojo y en Sika, se ha observado un desarrollo limitado en los embriones (Comizzoli et al., 2000a).

En los ovocitos de venado Cola Blanca que fueron vitrificados con Trehalosa o Sucrosa, se evaluaron, para determinar su viabilidad al ser desvitrificados, sin embargo, no se observó alguna diferencia el azúcar con el que

fueron vitrificados al momento del calentamiento, para poder ser sometidos a MIV con una evaluación por medio de la tinción DAPI y de esta manera poder identificar si los ovocitos pudieron madurar de forma nuclear, y seguido ser sometidos a FIV (Fertilización *in vitro*). La finalidad es estandarizar un protocolo de FIV con gametos vitrificados de venados, utilizado al modelo de venado Cola Blanca para subespecies en peligro de extinción (Rubio et al., 2023).

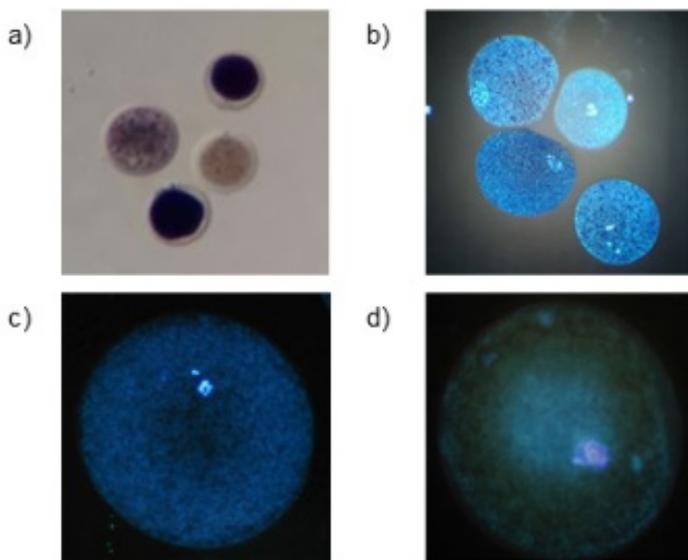


Figura 1. Ovocitos vitrificados de venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus*) en diferentes evaluaciones durante el proceso de FIV, a) Evaluación de la viabilidad de los ovocitos del venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus*) después del calentamiento con tinción MTT; los ovocitos teñidos de púrpura indican mitocondrias activas (es decir, consideradas vivas); los ovocitos sin teñir no indican actividad mitocondrial (es decir, se consideran ovocitos muertos), b) Estado nuclear de los ovocitos VCB, después del calentamiento, c) Ovocitos VCB, después de la maduración *in vitro* Metafase II que muestra el estado nuclear con tinción DAPI, y d) Ovocitos VCB, después de la fertilización *in vitro* mostrando el estado pronuclear (Rubio et al., 2023).

## Conclusiones y recomendaciones

Los resultados obtenidos en el presente estudio pueden ser útiles como antecedentes para la vitrificación de ovocitos inmaduros de venado Cola Blanca y servir como base para futuras investigaciones debido a la escasez de información disponible, por lo que se recomienda realizar más investigaciones en esta área.

La vitrificación en etapas tempranas del ovocito, como en la etapa de Vesícula Germinal, utilizando diferentes técnicas como Superficie Sólida o Cryoloop, reduce la probabilidad de obtener una MIV. Sin embargo, la criopreservación de ovocitos en la etapa de Vesícula Germinal podría proporcionar ovocitos que permitan llevar a cabo investigaciones sin verse afectados por la estacionalidad de la especie y evitando otras limitaciones de disponibilidad.

A pesar de los resultados obtenidos en el presente trabajo con venado cola blanca, aún hay margen para mejorar en la vitrificación de ovocitos de esta especie, considerando todos los factores que puedan influir para lograr una FIV. Se recomienda considerar aspectos como proporcionar una mejor protección al ovocito mediante un estabilizante del citoesqueleto o proteger el huso meiótico con un antioxidante, con el fin de que pueda resistir el proceso de vitrificación y lograr mejores tasas de recuperación.

## Bibliografía

Begin, I., Bhatia, B., Baldassarre, H., Dinnyes, A., & Keefer, C. L. (2003). Cryopreservation of goat oocytes and in vivo derived 2-to 4-cell embryos using the cryoloop (CLV) and solid-surface vitrification (SSV) methods. *Theriogenology*, 59(8), 1839-1850.

Berg, D.K., Thompson, J., & Asher, G. (2002a). Development of in vitro embryo production systems for Red deer (*Cervus elaphus*) Part 2. The timing of in vitro nuclear oocyte maturation. *Animal Reproduction Science*, 70, 77-84. DOI: 10.1016/s0378-4320(01)00200-7

Berg, D. K., Pugh, P. A., Thompson, J. G., & Asher, G. W. (2002b). Development of in vitro embryo production systems for red deer (*Cervus elaphus*): Part 3. In

vitro fertilisation using sheep serum as a capacitating agent and the subsequent birth of calves. *Animal Reproduction Science*, 70(1-2), 85-98.

Clemente-Sánchez, F., Gallegos-Sánchez, J., & Cortéz-Romero, C. (2017). *Manual de Reproducción Asistida para el Venado*, Colegio Postgraduados. Lab. Reprod. Anim. Campus San Luis Potosí, Versión 4:18-52.

Cognié, Y., Poulin, N., Locatelli, Y., & Mermillod, P. (2004). State-of-the-art production, conservation and transfer of in-vitro -produced embryos in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, 16, 437-445.

Criado-Scholz, E. (2012). *The Problem of Contamination: Open vs. Closed vs. Semi-Closed Vitrification Systems*. In: *Current frontiers in cryopreservation*. In Tech, open access publisher. Marbella, Spain. p. 105-131.

Choi, J. K., Yue, T., Huang, H., Zhao G., Zhang, M., & He, X. (2015). The Crucial Role of Zona Pellucida in Cryopreservation of Oocytes by Vitrification. *Cryobiology*, 71(2), 350-355. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2015.08.012>.

Comizzoli, P., Mauget, R., & Mermilod, P. (2000a). Assesment of in vitro fertility of deer spermatozoa by heterologous IVF with zona-free bovine oocytes. *Theriogenology*, 56, 261-274.

Comizzoli, P., Mermflod, P., Cogni, Y., Chai, N., Legendre, X., & Mauget, R. (2000b). Successful in vitro production of embryos in the red deer (*Cervus elaphus*) and the Sika deer (*Cervus nippon*). *Theriogenology*, 55, 649-659.

Dinnyés, A., Dai, Y., Jiang, S., & Yang, X. (2000). High developmental rates of vitrified bovine oocytes following parthenogenetic activation, in vitro fertilization, and somatic cell nuclear transfer. *Biology of Reproduction*, 63(2), 513-518.

El-Shalofy, A. S., Moawad, A.R., Darwish, G. M., Ismail, S. T., Badawy, A. B. A., & Badr, M. R. (2017). Cryobiology Effect of different vitrification solutions and cryodevices on viability and subsequent development of buffalo oocytes vitrified at the germinal vesicle (GV) stage. *Cryobiology*, 74, 86-92.

Fernández-Reyez, F., Ducolomb, Y., Romo, S., Casas, E., Salazar, Z., & Betancourt, M. (2012). Viability, maturation and embryo development in vitro of immature porcine and ovine oocytes vitrified in different devices. *Cryobiology*, 64, 261-266.

Ferreira, E. M., Vireque, A. A., Adona, P.R., Meirelles, F. V., Ferriani, R. A., & Navarro, P. A. A. (2009). Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: Structural and biochemical modifications and acquisition of developmental competence. *Theriogenology* 71, 836–848.

Fonseca, J. F., Souza-Fabjan, J. M. G., Oliveira, M. E. F., Leite, C. R., Nascimento-Penido, P. M. P., Brandão, F. Z., & Lehloenya, K. C. (2016). Nonsurgical embryo recovery and transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, 86, 144–151.

Galeati, G., Spinaci, M., Vallorani, C., Bucci, D., Porcu, E., & Tamanini, C. (2011). Pig oocyte vitrification by cryotop method on viability, spindle and chromosome configuration and in vitro fertilization. *Animal Reproduction Science*, 127, 43–49.

García-Macías, V., Martínez-Pastor, F., Álvarez, S., Borrigan, C. A., Chamorro, A. J., Soler, L., & De Paz, A. P. (2006). Seasonal Changes in Sperm Chromatin Condensation in Ram (*Ovis aries*), Iberian Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*), and Brown Bear (*Ursus arctos*). *Journal Andrology*, 27, 837–846.

Gastal, G.D.A., Aguiar, F.L.N., Rodrigues, A.P.R., Scimeca, J.M., Apgar, G. A., Banz, W.J, Feugang, J.M, & Gastal, E.L. (2018). Cryopreservation and vitro culture of White-tailed deer ovarian tissue. *Theriogenology*, 113, 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.03.003>

Grazul-Bilska, A. T., Choi, J.T., & Bilski, J. J. (2003). Effects of epidermal growth factor on early embryonic development after in vitro fertilization of oocytes collected from ewes treated with follicle stimulating hormone. *Theriogenology* 59, 1449–1457.

Hernández-Pichardo, J. E., Betancourt, J. M., Ducolomb, Y., Fierro, R., & Romo, S. (2017). *Formación de pronúcleos mediante la inyección intracitoplasmática de espermatozoides seleccionados por la unión a la zona pelúcida en ovocitos de ovino activados químicamente*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana. Cd. de México, México.

Izaguirre, E., & Díez, C. (2012). *Adaptación de un método de vitrificación/ calentamiento en plug para la transferencia directa de blastocitos bovinos producidos In vitro*. Tesis Maestría, Universidad de Oviedo. Oviedo, España.

- Locatelli, Y., Vallet, J.C., Huyghe, F.P., Cognié, Y., Legendre, X., & Mermillod, P. (2006). Laparoscopic ovum pick-up and in vitro production of sika deer embryos: effect of season and culture conditions. *Theriogenology*, 66(5), 1334-1342. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.05.005
- Looney, C. R., & Pryor, J. H. (2012). Novel bovine embryo transfer technologies in the United States. *Animal Reproduction*, 9, 404–413.
- Macías-García, B., González- Fernández, L., Matilla, E., Hernández, N., Mijares, J., & Sánchez-Margallo, F. (2018). Oocyte holding in the Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*): Effect of initial oocyte quality and epidermal growth factor addition on in vitro maturation. *Reproductive Domestic Animals*, 53(1):243-248. doi:10.1111/rda.13099.
- Martínez, A. F., Martínez-Pastor, F., Álvarez, M., Fernández-Santos, M. R., Estes, M. C., de Paz, P., Garde, J. J., & Anel, L. (2008). Sperm parameters on Iberian red deer: Electroejaculation and post-mortem collection. *Theriogenology*, 70, 216–226.
- Niemann, H., & Seamark, B. (2018). The evolution of farm animal biotechnology. *Animal Biotechnology 1: Reproductive Biotechnologies*, 1-26.
- Rodríguez-Suástegui, J. L., Ducolomb, Y., Hernández-Pichardo, J. E., Casas, E., Romo, S. (2012). *Evaluación del desarrollo embrionario in vitro en ovino utilizando medio de cultivo permanente o secuencial*. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana. México DF, México.
- Romo, S. (2007). *Avances Biotecnológicos aplicados a la reproducción bovina*. En: *Reproducción Bovina*. Capítulo XVIII. Editorial: UNAM-FMVZ. 1a Ed. ISBN: 978-970-32- 4568-0. México. Pp. 273-297.
- Rubio-Santillanes, V.A., Antillón-Ruiz, J., Romo, S., Rodríguez-Almeida, F.A., Álvarez-Gallardo, H., Rodríguez-Suástegui, J.L., Hernández-Pichardo, E., Rodríguez-Santillán, P., Delgado-Tiburcio, G. & Kjelland, M. E. (2023). Vitrification of White-tailed Deer (*Odocoileus virginianus*) oocytes with sucrose or trehalose for in vitro maturation and fertilization. *Agro Productividad*, 16, 2, 151-158.

Ruiz, J., Landeo, L., Mendoza, J., Artica, M., Correa, J. E., Silva, M., Miragaya, M., Ratto, M. H. (2013). Vitrification of in vitro mature alpaca oocyte: effect of ethylene glycol concentration and time of exposure in the equilibration and vitrification solutions. *Animal Reproduction Science*, 143, 72–78.

Saenz, J. R. (2007). *Cryopreservation of white-tail deer epididymal sperm for artificial insemination*. Master's Thesis. Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.

Siriaronrat, B., Comizzoli, P., Songsasen, N., Monfort, S.L., Wildt, D.E., & Pukazhenth, B.S. (2010). Oocyte quality and estradiol supplementation affect in vitro maturation success in the White-tailed Deer (*Odocoileus virginianus*). *Theriogenology*, 73, 112–119. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2009.08.007

Shirazi, A., Soleimani, M., Karimi, M., Nazari, H., Ahmadi, E., & Heidari, B. (2010). Cryobiology Vitrification of in vitro produced ovine embryos at various developmental stages using two methods *Cryobiology*, 60, 204–210.

Somfai, T., Noguchi, J., Kaneko, H., Nakai, M., & Ozawa, M. (2010). Production of good-quality porcine blastocysts by in vitro fertilization of follicular oocytes vitrified at the germinal vesicle stage. *Theriogenology*, 73, 147–156. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2009.08.008

Tríbulo, A., Rogan, D., Tribulo, H., Tribulo, R., Alasino, R. V., Beltramo, D., Bianco, I., Mapletoft, R. J., Bó, G. A. (2011). Superstimulation of ovarian follicular development in beef cattle with a single intramuscular injection of Folltropin-V. *Animal Reproduction Science*, 129, 7–13.

Wani, A. R., Khan, M. Z., Sofi, K. A., Lone, F. A., Malik, A. A., & Bhat, F. A. (2012). Effect of cysteamine and epidermal growth factor (EGF) supplementation in maturation medium on in vitro maturation, fertilization and culturing of embryos in sheep. *Small Ruminant Research*, 106, 160–164.

Zárate-Guevara, O. E. (2006). *Comparación de dos métodos de criopreservación de ovocitos bovinos*. Tesis de Maestría, Universidad Veracruzana. H. Veracruz, Veracruz. México.

**Capítulo 10**  
Cafetales con sombra: sitios alternativos  
para la conservación de mamíferos  
en Mesoamérica

Ronald Jesús Sánchez Brenes



## Introducción

La transformación de los paisajes en las regiones tropicales se ha dado debido a las formas alternativas al manejo tradicional de cultivos y la intensificación de los monocultivos, desencadenando en pérdida de cambios en la estructura vegetal, heterogeneidad de ecosistemas y sobre todo la biodiversidad (Guhl, 2004, Corella, 2016). Esto ha dado como resultado ecosistemas homogéneos y simples (Guhl, 2009). A nivel agronómico, por lo general este tema se deja de lado, se le da más relevancia al manejo y productividad de los sistemas agrícolas, sin tomar en cuenta el papel fundamental que juegan los diferentes elementos que lo componen y los servicios ecosistémicos que puedan ofrecer.

La Organización de Naciones Unidas en la Agenda 2030, específicamente en los objetivos del desarrollo sostenible, número 12: Producción y Consumo Responsable y número 15: Vida de Ecosistemas Terrestres ha retomado la importancia de la biodiversidad en los sistemas agrícolas (ONU, 2016). Para ello, una manera de revertir esta problemática es la implementación de agroecosistemas. Este tipo de sistemas representan un medio que une dos factores importantes: la producción sostenible y la protección de la biodiversidad (Corella, 2016). Un ejemplo de agroecosistema, son los cultivos de café bajo sombra, los cuales se caracterizan por presentar diversas formas de manejo, haciéndolo más amigable con los ecosistemas en cuanto a la oferta de bienes y servicios ambientales (Guhl 2009).

## Agroecosistemas con café

Los agroecosistemas con café igualmente denominados cafetales arbolados o con sombra, son sistemas sumamente complejos y se requiere de un entendimiento profundo tanto de las interacciones ecológicas entre individuos, poblaciones, y comunidades, como de los procesos ecosistémicos y los servicios ambientales que se generan (Tilman et al. 2002). En estos sistemas se combina el cultivo de café con otras especies en forma ordenada. Pueden emplearse árboles maderables de alto valor comercial como cedro (*Cedrela odorata*), caoba (*Swietenia macrophylla*); frutales como cítricos (*Citrus spp.*), aguacate (*Persea americana*) y mango (*Mangifera indica*); palmas como pejíbabe (*Bactris gasipaes*); y mejoradores de suelo y del clima como poró (*Erythrina*

*poepiggiana*), guaba (*Inga spp.*) o madero negro (*Gliricidium sepium*) (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2010).

Los ecosistemas con café también funcionan como corredores biológicos para incrementar la conectividad entre bosques remanentes en paisajes fragmentados (Steffa-Dewenter, 2002), proveyendo hábitat para la vida silvestre (Williams-Guillén *et al.*, 2010) donde se pueden observar una gran diversidad de especies animales (Sánchez *et al.*, 2018). En cuanto a los mamíferos los cafetales, son de los pocos sistemas capaces de sostener una comunidad muy diversa de estas especies, a pesar de la transformación de la vegetación original, ya que mantiene los estratos arbóreos del café de sombra, lo que proporciona una buena fuente de alimento, refugio, y protección para los mamíferos (Faminow *et al.*, 2001).

Los estudios de mamíferos en agroecosistemas con café en Mesoamérica no son muy limitados (Gallina *et al.*, 1996 y Moguel *et al.*, 1999). La mayoría de las investigaciones de mamíferos se enfocan en diversidad y los hábitats en donde se encuentran, se deja de lado las características específicas de estas especies en estos hábitats y el papel que desempeñan, entre los que se encuentran los servicios ecosistémicos (Manson *et al.* 2008, Caudill *et al.* 2014). Por lo que, en el presente capítulo se mostrarán los estudios de mamíferos en cafetales hechos en Mesoamérica (México y Centroamérica) así como el estudio de caso específico de cafetales de Rincón de Mora, San Ramón, Costa Rica, en donde se han detectado especies de mamíferos en peligro de extinción y las funciones ecosistémicas de depredación y dispersión de semillas de la especie *Dasyprocta punctata* (Guatusa, Cherenga).

## Presencia de mamíferos en agroecosistemas con café en México

En México se han registrado un total de 10 estudios para mamíferos terrestres. De los cuales uno ha sido en el Sur, Centro y Golfo de México, tres en Chiapas, Veracruz y Oaxaca. En donde se ha registrado un total de 53 especies (Cuadro 1). Para ello se utilizaron diferentes buscadores científicos como Google Academics, Scopus, Science Direct y Research Gate. Se revisaron alrededor de 300 artículos científicos en el año 2022.

**Cuadro 1. Investigaciones de mamíferos terrestres en cafetales con sombra en México.**

Referencia	Lugar de muestreo	Especies reportadas
Moguel et al. (1999)	Sur, Centro y Golfo de México	<i>Tamandua mexicana</i> , <i>Lutra longicaudis</i> , <i>Sphiggurus mexicanus</i> .
Cruz-Lara et al. (2004)	Chiapas	<i>Cuniculus paca</i> , <i>D. punctata</i> , <i>Didelphis marsupialis</i> , <i>Didelphis virginiana</i> , <i>Heteromys desmarestianus</i> , <i>Oryzomys alfaroi</i> , <i>Oryzomys couesi</i> , <i>Ototylomys phyllotis</i> , <i>Oryzomys rostratus</i> , <i>Peromyscus aztecus</i> , <i>Peromyscus mexicanus</i> , <i>Philander opossum</i> , <i>Mus musculus</i> , <i>Sigmodon hispidus</i> , <i>Sylvilagus brasiliensis</i> , <i>Tylomys nudicaudus</i> .
Dienle (2016)		<i>Heteromys goldmani</i> , <i>Oligoryzomys fulvescens</i>
Mendoza et al. (2013)		<i>P. mexicanus</i> , <i>P. gymnotis</i> , <i>Reithrodontomys gracilis</i> , <i>O. fulvescens</i> .
Estrada et al. (1994)	Oaxaca	<i>Alouatta palliata</i> , <i>Bassariscus sumichrasti</i> , <i>D. marsupialis</i> , <i>Orthogeomys hispidus</i> , <i>P. opossum</i> , <i>Potus flavus</i> , <i>Sciurus aureogaster</i> .
Contreras (2010)		<i>Heteromys irroratus</i> , <i>O. fulvescens</i> , <i>Oryzomys chapmani</i> , <i>O. rostratus</i> , <i>P. aztecus</i> , <i>Peromyscus beatae</i> , <i>P. mexicanus</i> , <i>Reithrodontomys mexicanus</i> , <i>Reithrodontomys fulvescens</i> , <i>Reithrodontomys sumichrasti</i> , <i>S. hispidus</i> , <i>T. nudicaudus</i> .
García-Estrada et al. (2015)		<i>Heteromys pictus</i> , <i>Peromyscus beatae</i> , <i>Sigmodon zanjoniensis</i> , <i>Tlacuatzin canescens</i>
Gallina et al. (1996)		<i>Dasypus novemcinctus</i> , <i>D. marsupialis</i> , <i>D. virginiana</i> , <i>Nasua narica</i> , <i>S. aureogaster</i> , <i>P. opossum</i> , <i>Procyon lotor</i> .
Dienle (2016)	Veracruz	<i>D. novemcinctus</i> , <i>D. marsupialis</i> , <i>Galictis vittata</i> , <i>Puma yagouaroundi</i> , <i>Marmosa mexicana</i> , <i>Microtus quasiater</i> , <i>O. alfaroi</i> , <i>O. fulvescens</i> , <i>P. aztecus</i> , <i>R. mexicanus</i> , <i>Sylvilagus floridanus</i> , <i>T. mexicana</i> , <i>Urocyon cinereoargenteus</i>
Mendoza et al. (2013)		<i>C. paca</i> , <i>B. astutus</i> , <i>Canis latrans</i> , <i>Dasyprocta mexicana</i> , <i>D. novemcinctus</i> , <i>D. virginiana</i> , <i>Leopardus wiedii</i> , <i>Mephitis macroura</i> , <i>Mustela frenata</i> , <i>N. narica</i> , <i>P. flavus</i> , <i>P. lotor</i> , <i>S. aureogaster</i> , <i>S. floridanus</i> , <i>T. mexicana</i> , <i>U. cinereoargenteus</i> .

En cuanto a los mamíferos voladores, se tienen cinco estudios registrados. Dos en Chiapas, uno en Oaxaca y dos en Veracruz. Para un total de 38 especies (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Investigaciones de mamíferos voladores en cafetales con sombra en México**

Referencia	Lugar de muestreo	Especies reportadas
Cruz-Lara et al. (2004)	Chiapas	<i>Artibeus jamaicensis</i> , <i>Artibeus lituratus</i> , <i>Artibeus phaeotis</i> , <i>Artibeus watsoni</i> , <i>Artibeus toltecus</i> , <i>Carollia brevicauda</i> , <i>Chiroderma villosum</i> , <i>Choeroniscus godmani</i> , <i>Centurio senex</i> , <i>Desmodus rotundus</i> , <i>Diphylla ecaudata</i> , <i>Glossophaga commissarisi</i> , <i>Glossophaga morenoi</i> , <i>Glossophaga soricina</i> , <i>Hylonycteris underwoodi</i> , <i>Myotis nigricans</i> , <i>Phyllostomus discolor</i> , <i>Platyrrhinus helleri</i> , <i>Sturnira lilium</i> , <i>Sturnira ludovici</i> , <i>Tonatia saurophila</i> , <i>Uroderma bilobatum</i> , <i>Vampyressa pusilla</i> .
Mendoza y Horvath (2013)		<i>Anoura geoffroyi</i> , <i>A. jamaicensis</i> , <i>A. lituratus</i> , <i>A. phaeotis</i> , <i>A. toltecus</i> , <i>Carollia sowelli</i> , <i>Enchisthenes hartii</i> , <i>G. commissarisi</i> , <i>G. morenoi</i> , <i>H. underwoodi</i> , <i>Micronycteris microtis</i> , <i>Mormoops megalophylla</i> , <i>Myotis keaysi</i> , <i>Pteronotus parnellii</i> , <i>S. lilium</i> , <i>S. ludovici</i>
García-Estrada et al. (2015)	Oaxaca	<i>A. geoffroyi</i> , <i>A. jamaicensis</i> , <i>A. lituratus</i> , <i>A. phaeotis</i> , <i>A. toltecus</i> , <i>A. watsoni</i> , <i>Carollia subrufa</i> , <i>C. senex</i> , <i>Chiroderma salvini</i> , <i>C. godmani</i> , <i>D. rotundus</i> , <i>G. commissarisi</i> , <i>G. morenoi</i> , <i>G. soricina</i> , <i>Pteronotus parnellii</i> , <i>Sturnira hondurensis</i> , <i>Sturnira parvidens</i> , <i>Vampyressa thyone</i>
Pineda et al. (2006)	Veracruz	<i>A. geoffroyi</i> , <i>A. jamaicensis</i> , <i>Artibeus intermedius</i> , <i>A. lituratus</i> , <i>D. rotundus</i> , <i>C. brevicauda</i> , <i>Dermanura phaeotis</i> , <i>G. soricina</i> , <i>M. megalophylla</i> , <i>Pteronotus davyi</i> , <i>S. ludovici</i> .
Saldaña-Vasquez (2008)		<i>A. geoffroyi</i> , <i>A. jamaicensis</i> , <i>A. lituratus</i> , <i>A. phaeotis</i> , <i>A. toltecus</i> , <i>C. senex</i> , <i>Carollia sowelli</i> , <i>G. soricina</i> , <i>S. lilium</i> , <i>S. ludovici</i>

## Presencia de mamíferos en agroecosistemas con café en Centroamérica

Los cafetales en Centroamérica tienen registrados seis estudios que se enfocan en mamíferos terrestres. De estos seis estudios uno ha sido en El Salvador y Honduras mientras que en Costa Rica y Guatemala se han efectuado dos. Para un total de 37 especies reportadas.

**Cuadro 3. Investigaciones de mamíferos terrestres en cafetales con sombra en Centroamérica.**

Referencia	País	Lugar de muestreo	Especies reportadas
Caudill et al. (2014)	Costa Rica	Turrialba	<i>D. novemcinctus</i> , <i>D. marsupialis</i> , <i>O. alfaroi</i> , <i>H. desmarestianus</i> , <i>M. mexicana</i> , <i>Marmosa robinsoni</i> , <i>Melanomys caliginosus</i> , <i>M. musculus</i> , <i>P. mexicanus</i> , <i>P. opossum</i> , <i>P. lotor</i>
Sánchez et al. (2018)	Costa Rica	San Ramón (Rincón de Mora)	<i>A. palliata</i> , <i>Bradipus variegatus</i> , <i>Canis latrans</i> , <i>Choloepus hoffmani</i> , <i>Conepatus semistriatus</i> , <i>C. paca</i> , <i>D. punctata</i> , <i>D. novemcinctus</i> , <i>D. marsupialis</i> , <i>Eira barbara</i> , <i>G. vittata</i> , <i>Leopardus tigrinus</i> , <i>L. wiedii</i> , <i>L. longicaudus</i> , <i>M. frenata</i> , <i>N. narica</i> , <i>P. opossum</i> , <i>P. flavus</i> , <i>P. lotor</i> , <i>P. yagourundi</i> , <i>Sciurus variegatoides</i> , <i>S. mexicanus</i> , <i>T. mexicana</i> , <i>U. cinereoargenteus</i> .
Sánchez y Monge (2019)	Costa Rica	San Ramón (Rincón de Mora)	<i>C. centralis</i>
Sánchez y Monge (2021)	Costa Rica	San Ramón (Rincón de Mora)	<i>D. punctata</i>
Sánchez y Monge (2022)	Costa Rica	San Ramón (Rincón de Mora)	<i>G.vittata</i>
Sánchez y Monge (2024)	Costa Rica	San Ramón (Rincón de Mora)	<i>D. marsupialis</i> , <i>P. melanurus</i> , <i>C. centralis</i> , <i>D. novemcinctus</i> , <i>S. gabbi</i> , <i>E. variegatoides</i> , <i>H. salvini</i> , <i>M. chrysomelas</i> , <i>D. punctata</i> , <i>M. musculus</i> , <i>R.rattus</i> , <i>C. nigrescens</i> , <i>P. concolor</i> , <i>C. latrans</i> , <i>C. semistriatus</i> , <i>E. barbara</i> , <i>G. vittata</i> , <i>N. narica</i> , <i>P. lotor</i> .
Rodríguez (2011)	El Salvador	Ahuachapan	<i>M. frenata</i> , <i>Odocoileus virginianus</i> , <i>U. cinereoargenteus</i>

Referencia	País	Lugar de muestreo	Especies reportadas
Escobar (2015)	Guatemala	Atitlán	<i>C. paca</i> , <i>D. punctata</i> , <i>D. novemcinctus</i> , <i>L. wiedii</i> , <i>M. macroura</i> , <i>N. narica</i> , <i>O. virginianus</i> , <i>P. lotor</i> , <i>Puma concolor</i> , <i>T. mexicana</i> , <i>U. cinereoargenteus</i> .
Escobar-Anleu (2023)	Guatemala	Atitlán	<i>C. paca</i> , <i>D. punctata</i> , <i>D. novemcinctus</i> , <i>D. virginiana</i> , <i>E. barbara</i> , <i>L. wiedii</i> , <i>M. macroura</i> , <i>N. narica</i> , <i>O. virginianus</i> , <i>P. lotor</i> , <i>P. concolor</i> , <i>S. variegatoides</i> , <i>T. mexicana</i> , <i>U. cinereoargenteus</i> .
Marineros et al. (2016)	Honduras	Santa Bárbara	<i>Calorurnys derbianus</i>

Para los mamíferos voladores se han logrado investigar 13 especies. Esto gracias a tres estudios realizados en Costa Rica, Guatemala y Honduras (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Investigaciones de mamíferos voladores en cafetales con sombra en Centroamérica.**

Referencia	País	Lugar de muestreo	Especies reportadas
Sánchez et al. (2018)	Costa Rica	San Ramón (Rincón de Mora)	<i>A. jamaicensis</i> , <i>A. lituratus</i> , <i>Carollia perspicillata</i> , <i>H. underwoodi</i> , <i>P. helleri</i> , <i>V. thyone</i>
Kraker-Castañeda et al. (2011)	Guatemala	Antigua	<i>Artibeus azteca</i> , <i>A. jamaicensis</i> , <i>Artibeus intermedius</i> , <i>A. lituratus</i> , <i>A. toltecus</i> , <i>D. rotundus</i> , <i>S. liliium</i> , <i>S. ludovici</i> .
Espinal y Mora (2012)	Honduras	Choluteca	<i>Eptesicus brasiliensis</i>

## Caso específico Rincón de Mora, San Ramón, Costa Rica

Con el fin de complementar la información de los mamíferos en Centroamérica se describe el estudio de caso de agroecosistemas con café en Rincón de Mora, San Ramón, Costa Rica. En esta zona se presenta una precipitación

de 3461mm por año, con una temperatura promedio de 20°C y una humedad relativa de 92% (CIGEFI, 2019). El paisaje que predomina en la zona son los agroecosistemas con café con sombra. Las fincas objeto de estudio se ubican entre los 1,200 y 1,250 m.s.n.m., con pendientes de 15, 30 y 45% (Sánchez y Moya, 2018). Estos sistemas productivos pertenecen a pequeños productores y tienen 6,2 ha. Están rodeados de un bosque secundario, lo cual permite que funcionen como hábitat alternativo para mamíferos terrestres y voladores (Figura 1).

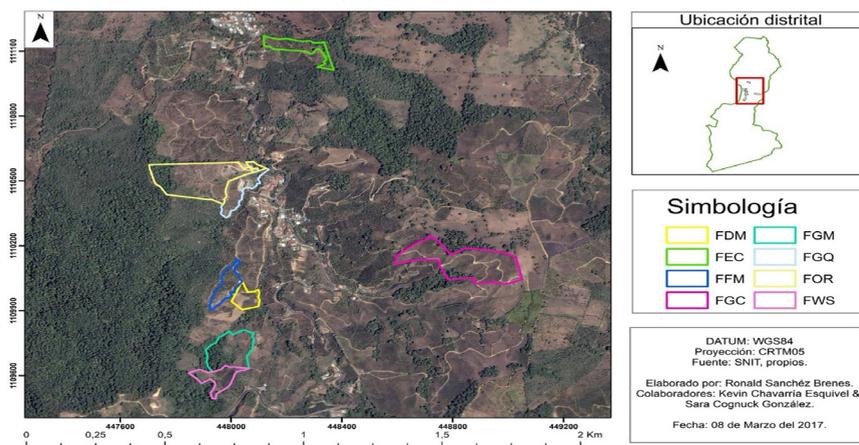


Figura 1. Ubicación del área de estudio en Rincón de Mora, San Ramón, Alajuela, Costa Rica.

Dentro de las investigaciones que se han dado en este lugar, se tiene la de Sánchez et al. (2018) en la cual se hicieron para la identificación de mamíferos terrestres, entrevistas a productores, recorridos por el sitio para observaciones, en el cual el resultado fue un total de 25 especies (Cuadro 3), en donde las más comunes fueron *C. latrans*, *D. punctata*, *D. novemcinctus*, *D. marsupialis* y *P. lotor*. Así como otras no tan frecuentes como *L. wiedii* (Figura 2).



Figura 2. Presencia de mamíferos terrestres en cafetales de Rincón de Mora. A. *C. latrans*, B. *D. punctata*, C. *D. novemcintus*, D. *D. marsupialis*, E. *Procyon lotor* y F. *L. wiedii* (Elaboración propia, adaptado de Sánchez et al. 2018).

En cuanto a los mamíferos voladores se registraron siete especies. Para ello se utilizó la técnica de captura con redes de niebla en las diferentes fincas. Las especies registradas fueron *A. jamaicensis*, *A. lituratus*, *P. helleri*, *C. perspicillata*, *H. underwoodi* y *V. thyone* (Figura 3).

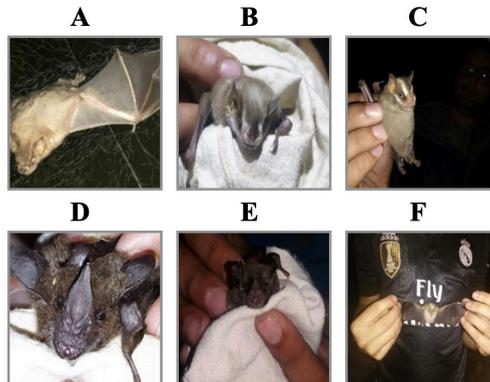


Figura 3. Presencia de mamíferos voladores en agroecosistemas con café Rincón de Mora, San Ramón, Costa Rica. A. *A. jamaicensis*, B. *A. lituratus*, C. *P. helleri*, D. *C. perspicillata*, E. *H. underwoodi*, F. *V. thyone* (Elaboración propia, adaptado de Sánchez et al. 2018).

A raíz de los registros obtenidos por Sánchez *et al.* (2018), se intensificaron los estudios en este sitio. Se utilizaron cámaras trampa colocándose en sitios estratégicos (cuerpos de agua, sitios de alimentación y pasos de fauna). Esto permitió el registro de dos mamíferos con pocos datos y probablemente en peligro de extinción, según la Unión Internacional para la Conservación (UICN) y con nuevas extensiones de su ámbito de acción. El primero de ellos fue el reporte de *Cabassous centralis* (Armadillo zopilote), el cual fue el primer reporte para Costa Rica (25 de julio de 2019) en agroecosistemas con café (Sánchez *et al.* 2019). El segundo fue el avistamiento de *G. vittata*, el cual fue el noveno reporte (9 de junio y 15 de noviembre 2020), de todos los estudios de este mamífero para Costa Rica (Sánchez *et al.* 2022) (Figura 4).

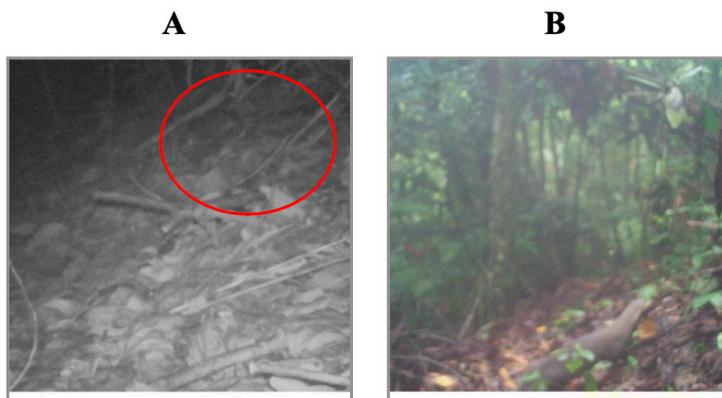


Figura 4. Presencia de animales en peligro de extinción en agroecosistemas con café. A. *C. centralis* y B. *G. vittata* (Elaboración propia, adaptado de Sánchez *et al.*, 2019 y 2022).

De igual manera el se hizo un muestreo con cuatro cámaras trampa durante tres años (2019-2022), ubicadas en dos fincas escogidas a conveniencia. Estas cámaras se ubicaron en sitios estratégicos como pasos de fauna, fuentes de agua y sitios de alimentación (Figura 5).

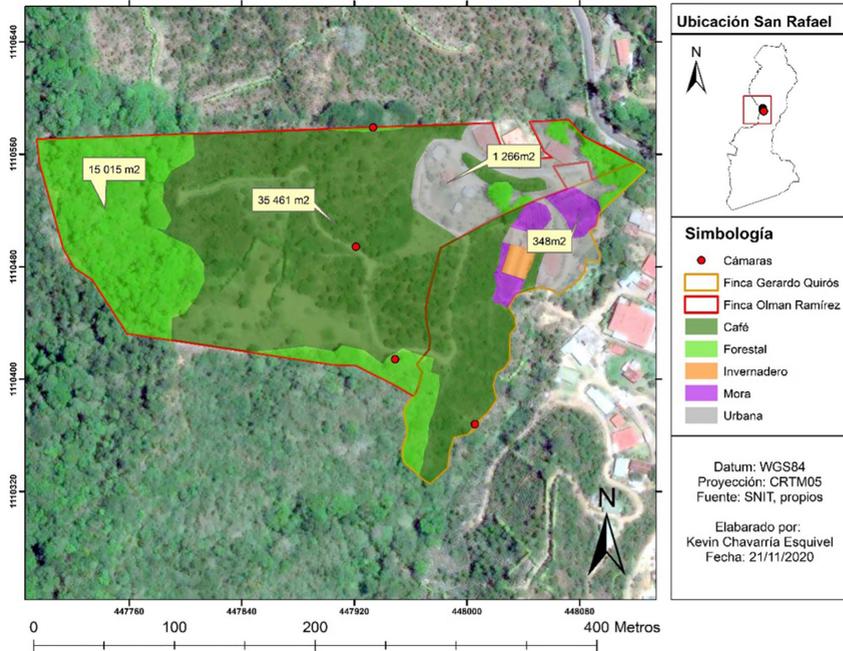


Figura 5. Ubicación de cámaras trampa en el área de estudio en Rincón de Mora, San Ramón, Alajuela, Costa Rica.

Esto permitió observar el funcionamiento de los mamíferos mediante servicios ecosistémicos. Tal es el caso de *D. punctata*, la cual se tomará como ejemplo. Sánchez et al. (2021) observaron a *D. punctata* depredando algunos frutales, entre ellos *Musa paradisiaca*. También se le notó consumiendo *Inga densiflora* y dispersando las semillas de esta leguminosa que es común en cafetales y aporta con la fijación de nitrógeno al suelo. Además de depredar hongos del género *Polyporus* los cuales probablemente se diseminen por la acción de este mamífero (Figura 6).

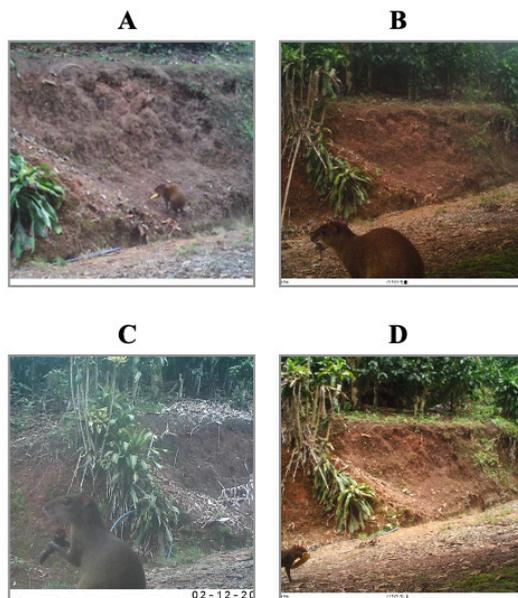


Figura 6. Servicios ecosistémicos de depredación y dispersión de semillas de *D. punctata*. A. *D. punctata* depredando *M. paradisiaca* AAB, B. *D. punctata* dispersando *I. densiflora*, C. *D. punctata* depredando *Polyporus* sp y D. *D. punctata* depredando *M. paradisiaca* AAA (Elaboración propia, adaptado de Sánchez et al. 2021).

## Conclusiones

Mesoamérica cuenta con un registro de 68 especies de mamíferos terrestres y 41 mamíferos voladores en donde los agroecosistemas con café han surgido como un hábitat alternativo a la destrucción de los bosques, que incluso albergan mamíferos en peligro de extinción como *C. centralis* y *G. vitatta*, Sin embargo, se debe tener claro que ningún hábitat puede sustituir a los bosques.

La zona del sureste de México es el sector donde se registra la mayor actividad cafetalera, por lo cual la incidencia de mamíferos en los cafetales cercanos al bosque mesófilo de montaña de los estados de Veracruz, Oaxaca y Chiapas es bastante numerosa. Este tipo de sistemas colaboran con la conservación de los mamíferos en México.

## Para Centroamérica

### Costa Rica

Los mamíferos por su parte contribuyen con diferentes servicios ecosistémicos a los agroecosistemas con café, con el fin de mantener el balance ecológico de este hábitat

## Bibliografía

Caudill, A., De Clerck, F., & Husband, T. (2014). Connecting sustainable agriculture and wildlife conservation: Does shade coffee provide habitat for mammals? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 199, 85-93.

CIGEFI (Centro de Investigaciones Geofísicas). (2019). Datos de la Estación Meteorológica de la Sede de Occidente, Universidad de Costa Rica. San Ramón, Alajuela.

Contreras, R. (2010). *Diversidad de pequeños mamíferos no voladores en los agroecosistemas cafetaleros de sombra en la Chinantla Alta, Oaxaca, México*. Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca, México, 70p.

Corella, M. (2016). Agroforestería y Biodiversidad: La importancia de los sistemas agroforestales en la conservación de especies. *Biocenosis*, (30), 59-62.

Cruz-Lara, L. C., Lorenzo, C., Soto, L., Naranjo, E., & Ramírez-Marical, N. (2004). Diversidad de mamíferos en cafetales y selva mediana de las cañadas de la Selva Lacandona, Chiapas, México. *Acta Zoologica Mexicana*, 20, 63-81.

Dienle, Z. (2016). *Terrestrial small mammal diversity and microhabitat associations in shade coffee agroecosystems*. Thesis Master Science, University of Michigan, 41p.

Escobar, B. (2015). *Riqueza de mamíferos medianos y mayores en cafetales y bosques de tres reservas naturales privadas (San Jerónimo Miramar-Quixayá, Pampojilá-Peña Flor y Santo Tomás de Pachuj)* De la Reserva de Usos Múltiples de la Cuenca del Lago Atitlán -RUMCLA-. Tesis de Maestría, Universidad de San Carlos, Guatemala, 77 p.

- Escobar-Anleu, B., Soto-Shoender, J.R., Rivas-Romero, J., & Montes, N. (2023). ¿Más árboles con su café? Diversidad y asociaciones de hábitat de mamíferos terrestres medianos y grandes en plantaciones de café bajo sombra en el altiplano de Guatemala. *Acta Zoológica Mexicana* (nueva serie) 39, 1-20.
- Espinal, M. & Mora, J.M. (2016). Noteworthy record of *Eptesicus brasiliensis* (Vespertilionidae) in Honduras. *Ceiba* (53):77-80.
- Estrada, A., Coates-Estrada, R., & Merrit, D. Jr. (1994). Non-flying mammals and landscape changes in the tropical rainforest region of Los Tuxlas. *Ecography*, 17, 229-241.
- Faminow, M. & Rodríguez, E. (2001). Biodiversity of flora and fauna in shaded coffee systems. *International Centre for Research in Agroforestry*, 43 p.
- Gallina, S., Mandujano, S., & González-Romero, A. (1996). Conservation of mammalian biodiversity in coffee plantations of Central Veracruz, Mexico. *Agroforests System*, 33, 13-27.
- García-Estrada, C., Peña-Sánchez, Y. & Colín-Martínez, H. (2015). Diversidad de mamíferos pequeños en dos sitios con diferente grado de alteración en la Sierra Sur, Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86, 1014-1023.
- Guhl, A. (2004). Café y cambio de paisaje en la zona cafetera colombiana entre 1970 y 1997. *Cenicafé*, 55(1), 29-44.
- Guhl, A. (2009). Café, bosques y certificación agrícola en Aratoca, Santander. *Revista de Estudios Sociales*. Universidad de los Andes, No. 32.
- Kraker-Castañeda, C. & Pérez-Consuegra, S. (2011). Contribución de los cafetales bajo sombra en la conservación de murciélagos en la Antigua, Guatemala. *Acta Zoológica Mexicana*, 27, 291-303
- Manson, R., Hernández-Ortiz, V., Gallina, S. & Mehltreter, K. (2008). Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz; Biodiversidad, Manejo y Conservación. Instituto de Ecología e Instituto Nacional de Ecología, México, 348 p.
- Marineros, L., Vega, H., Adams, J. & McKewy, M. (2016). Notes and noteworthy records of *Caluromys derbianus* (Marsupialia: Didelphidae) in Honduras. *Revista Biodiversidad Neotropical*, (6), 77-84.

Mendoza, V. & Horvath, A. (2013). Roedores y murciélagos en la zona cafetalera del Volcán Tacaná, Chiapas, México. *THERYA*, 4, 409-423.

Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2010). *Guía técnica para la difusión de tecnologías de producción agropecuaria sostenible*. 1 ed, San José, Costa Rica 180 p.

Moguel, P. & Toledo, V. (1999). Biodiversity conservation in traditional coffee system of Mexico. *Conservation Biology*, 13, (1), 11-21.

Pineda, E., Moreno, C., Escobar, F. y Halffter, G. (2005). Frog, bat and dung beetle diversity in cloud forest and coffee agroecosystems of Veracruz, Mexico. *Conservation Biology*, 19, 400-410.

Rodríguez, M. (2011). *Diversidad de mamíferos grandes y medianos en el Parque Nacional El Imposible, Departamento de Ahuachapán, El Salvador*". Tesis de Licenciatura, Universidad del El Salvador, 135 p.

Saldaña Vásquez, R. (2008). *Comparación de la diversidad de murciélagos filostómidos en fragmentos de bosque mesófilo de montaña y cafetales de sombra, del centro de Veracruz*. Tesis de Maestría, Instituto de Ecología, Veracruz, México, 80p.

Sánchez-Brenes, R., & Moya, M. (2017). Biodiversidad en fincas cafetaleras de Rincón de Mora, San Ramón, Alajuela, Costa Rica. *Revista Pensamiento Actual*, (31), 68-86.

Sánchez-Brenes, R., & Monge, J. (2019). El armadillo, *Cabassous centralis* (Cingulata: Chlamyphoridae) en agroecosistemas con café de Costa Rica. *UNED Research Journal*, 11(3), 436-443.

Sánchez-Brenes, R., & Monge, J. (2021). Períodos de actividad y dieta de *Dasyprocta punctata* (Gray, 1842) (Rodentia; Dasyproctidae) en agroecosistemas con café, San Ramón, Costa Rica. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, (37), e3712346,

Sánchez-Brenes, R., & Monge, J. (2022). El grisón, *Galictis vitatta* (Carnivora: Mustelidae) en agroecosistemas de café, Costa Rica. *UNED Research Journal*, 14(1), e3796

Sánchez-Brenes, R., & Monge, J. (2024). Papel de los mamíferos silvestres en la dispersión de semillas y en la cadena alimentaria de agroecosistemas de café en Costa Rica. *UNED Research Journal*, 16(1), e5128.

Steffan-Dewenter, I., (2002). Landscape context affects trap-nesting bees, wasps, and their natural enemies. *Ecological Entomology*, 27(5), 631–637.

Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418, 671-677.

Tlapaya, L., & Gallina, S. (2010). Cacería de mamíferos medianos en cafetales del centro de Veracruz, México. *Acta Zoológica Mexicana*, (26), 259-277.

Williams-Guillén, K., & Perfecto, I., (2010). Effects of agricultural intensification on the assemblage of leaf-nosed bats (Phyllostomidae) in a coffee landscape in Chiapas, Mexico. *Biotropica*, 42, 605–613.

*Estrategias para recuperar mamíferos en riesgo*  
se terminó de imprimir en diciembre de 2024,  
con un tiraje de 25 ejemplares, más sobrantes para reposición.





ISBN 978-607-28-3321-0



9 786072 833210 >



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
Unidad Iztapalapa

Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco, Núm. 186,  
Col. Leyes de Reforma 1a. Sección, Alcaldía Iztapalapa,  
C.P. 09310, Ciudad de México