

**LICENCIATURA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS FACULTAD  
DE CIENCIAS  
PASANTÍA DE GRADO  
Orientación Ecología  
Julio 2022**

---

**Evaluación de una metodología molecular para el  
análisis de la dieta del Guazubirá  
(*Mazama gouazoubira*) en un paisaje serrano de  
Lavalleja, Uruguay**



**Bach. Antonella Bruno**

**TUTORA**

**Dra. Mariana Cosse**

DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD Y GENÉTICA  
Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)

**CO-TUTOR**

**Dr. Alejandro Brazeiro**

GRUPO BIODIVERSIDAD Y ECOLOGÍA DE LA CONSERVACIÓN  
Facultad de Ciencias

## ÍNDICE

RESUMEN.....	3
1.1. El guazubirá ( <i>Mazama gouazoubira</i> ) .....	4
1.2. Barcoding y Metabarcoding para estudios de dieta en herbívoros.....	6
2. OBJETIVOS .....	8
2.1. General.....	8
2.2. Específicos.....	8
3.1. Área de estudio .....	9
3.2. Estrategia de muestreo.....	11
3.3. Extracción de ADN y PCR.....	12
3.4. Análisis bioinformáticos.....	13
3.5. Análisis estadísticos y otros análisis.....	14
4. RESULTADOS.....	18
<b>Tabla 4.1.</b> Lista de muestras utilizadas para extracción de ADN. Se detalla la relación 260/280 y la concentración de ADN obtenido con Nanodrop. Se incluye el período de colecta de cada muestra. ....	18
4.1. Extracción de ADN y PCR.....	18
4.2. Análisis de secuencias .....	19
5. DISCUSIÓN .....	26
6. BIBLIOGRAFÍA .....	28
7. ANEXOS.....	34
<b>Anexo I:</b> .....	34
<b>Tabla A1.</b> Lista de especies/géneros de flora identificados en el Parque Salus. Se especifica si la secuencia de la región trnL del cloroplasto se encontraba en GenBanken octubre de 2018 para el género o la especie considerada con “Sí”, y si no se encontraba con “No”). .....	34

## RESUMEN

El bosque nativo es refugio de un gran número de especies de fauna autóctona, entre las que se encuentran 46 especies de mamíferos. *Mazama gouazoubira* es una de estas especies, la cual no se encuentra en categoría de amenaza al ser identificada como de Preocupación Menor según la Lista Roja de la UICN. Debido a sus hábitos alimenticios, este cérvido es considerado un agente dispersor de semillas fundamental para el mantenimiento de los bosques donde se alimenta. En este estudio se utilizaron técnicas moleculares para la identificación taxonómica de los componentes vegetales de la dieta de *M. gouazoubira*. La metodología basada en secuenciación masiva y determinación taxonómica en base a ADN, a partir de muestras no invasivas recolectadas (fecas), nos permitió identificar diversos componentes dietarios y responder preguntas sobre la ecología de la especie. Las muestras se recolectaron en el Parque Salus (Lavalleja, Uruguay) en dos períodos diferentes (estival e invernal) y en dos ambientes distintos (bosque nativo, plantaciones de exóticas). El marcador molecular utilizado en este trabajo fue el intrón *trnL* (UAA) del cloroplasto. Éste contiene una región denominada loop P6 que tiene un tamaño de entre 10 a 143 pb y fue utilizado como región hipervariable para la determinación de especies, géneros y familias vegetales a partir del ADN extraído de las muestras. Para la secuenciación de los productos amplificados por PCR se utilizó la metodología de secuenciación masiva (Next Generation Sequencing). Las secuencias obtenidas se contrastaron con el banco de secuencias del GenBank. A partir de la comparación entre las especies vegetales presentes en el Parque y la lista de especies obtenidas del ADN de fecas, se evaluó el potencial de estas técnicas moleculares para estudios de dieta y preferencia de los ítems alimenticios de este cérvido.

Las familias Fabaceae y Rosacea fueron las más consumidas por *M. gouazoubira*, lo que no estaría relacionado con la disponibilidad ya no son las más abundantes registradas en el área de estudio. Estos resultados podrían estar entonces vinculados a la palatabilidad y/o valor nutricional de dichas familias vegetales para este ciervo. Las dietas mostraron un solapamiento reducido (0,28) a nivel de género al contrastar entre estaciones del año, lo que indicó una variación estacional de la dieta. A nivel de familias el solapamiento fue mayor (0,88), por lo que no hubo tanta variación estacional en los grandes grupos consumidos, pero sí con relación a la disponibilidad de especies entre invierno y primavera-verano. Por último, se observó que este ciervo consume tanto plantas nativas como exóticas, lo que refleja la capacidad de adaptación de esta especie a las modificaciones ambientales e influencias antropogénicas.

Las técnicas moleculares demostraron ser de gran utilidad para la caracterización de la dieta del guazubirá. A pesar de los sesgos en los muestreos y del bajo porcentaje de especies y géneros de plantas del Parque Salus que están presentes en la base de datos del GenBank, se lograron identificar 11 familias, 21 géneros y 4 especies.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. El guazubirá (*Mazama gouazoubira*)

El guazubirá (*Mazama gouazoubira*), también conocido como corzuela parda o guazuncho a lo largo de su distribución, es un animal que habita bosques serranos, de quebrada, de galería, plantaciones forestales y sus áreas de influencia de pastizal abierto (Achaval et al., 2007). Su distribución comprende el este de las regiones secas pre-Andinas de Argentina y Bolivia, extendiéndose a la costa atlántica en el oeste; el límite al norte es el sur de la región amazónica y su límite al sur incluye Uruguay hasta la provincia de Entre Ríos, Argentina (Duarte y González, 2010) (Figura 1.1.). En Uruguay se lo puede encontrar principalmente en el norte y este del país (González y Martínez-Lanfranco, 2010; Achaval et al., 2007).

*M. gouazoubira* (Mammalia, Artiodactyla) está catalogado por la Lista Roja de la UICN como Preocupación Menor (Black y Vogliotti, 2016) y se lo considera una especie tolerante a las modificaciones ambientales, ya que se lo suele ver, además de en áreas silvestres bien conservadas, en áreas degradadas y parcialmente cultivadas o en bosques con dominancia de especies exóticas (Emmons y Feer, 1997; Eisenberg y Redford, 1999). A nivel nacional se lo considera una especie Susceptible (González y Martínez-Lanfranco, 2010) y no prioritaria para la conservación (Soutullo et al., 2013); la categorización según UICN a escala país se encuentra en proceso de elaboración a la fecha.

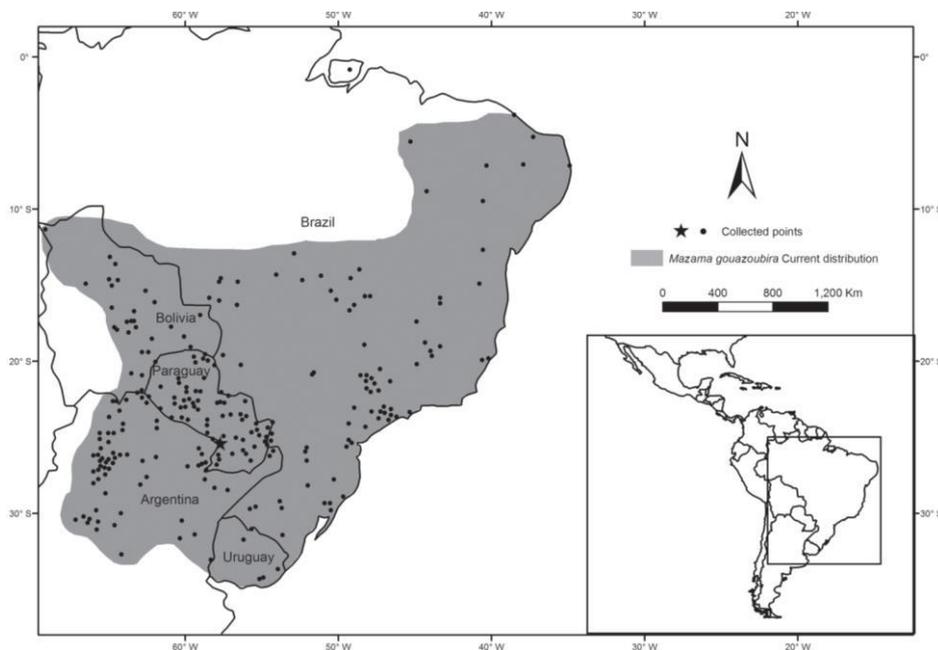


Figura 1.1. Distribución geográfica de *Mazama gouazoubira* (Black-Décima et al., 2010)

Este animal es solitario y se lo encuentra en pareja sólo en la época de celo. Existe dimorfismo sexual, los machos presentan pequeñas astas, simples y punzantes (Figura 1.2.). Marcan el territorio con el frotamiento de las astas, así como de regiones glandulares en la vegetación y también mediante las fecas (Achaval et al., 2007).

Son animales tímidos y escurridizos, cuando se sienten amenazados corren rápidamente a refugiarse entre la vegetación del bosque e incluso atraviesan a nado corrientes de agua, por lo que se les considera buenos nadadores (Achaval et al., 2007). Estas características los lleva a tener hábitos crepusculares y/o nocturnos, refugiándose durante el día y saliendo a alimentarse en las últimas horas de la tarde y en la noche (Black-Décima et al., 2010; Grotta-Neto et al., 2019).



**Figura 1.2.** *Mazama gouazoubira* hembra a la izquierda. *Mazama gouazoubira* macho a la derecha. En este último se ve la presencia de astas simples y punzantes.

La alimentación del guazubirá se basa principalmente en gramíneas, frutos y ramas de árboles y arbustos (Achaval et al., 2007), pero poco se conoce acerca de la misma (Chébez y Johnson, 1984; Eisenberg y Redford, 1992; Richard et al., 1995). Existe información fragmentaria de la composición de su dieta para el Chaco Boreal Paraguayo (Stallings, 1984) y registros aislados para Surinam (Branan et al., 1985), las Yungas (Richard et al., 1995) y la Amazonía peruana (Bodmer, 1991). De tales datos se desprende que los frutos constituyen una parte importante de la dieta, aunque el grado de frugivoría varía según las áreas consideradas (Bodmer, 1991; Richard et al., 1995). Esta preferencia alimentaria ubicaría al guazubirá como un agente dispersor de semillas de las especies que integran su dieta (Richard et al., 1995), por lo que tiene una gran importancia en el mantenimiento y estructuración de los bosques donde se alimenta.

Una de las herramientas que se utiliza para el estudio del uso de hábitat de mamíferos de mediano y gran porte es el registro de rastros (huellas, fecas, pelos, plumas, carcasas, marcas visibles en la vegetación), ya que las oportunidades de visualizar ciertas especies de forma directa son limitadas y éstos permiten obtener información indirecta de sus hábitos, proveen un registro de presencia en un área o de sus patrones de movimiento (Wemmere et al., 1986; Simonetti y Huareco, 1999; Soto Quiroga y Herrera-Flores, 2003). El registro de rastros constituye una estrategia

de muestreo no invasivo donde, en algunos casos, la identificación es posible sin la necesidad de capturar, ni observar al animal (Mills et al., 2016; Taberlet et al., 1999). La identificación de los rastros nombrados anteriormente puede ser realizada mediante comparación frente a una colección de referencia o recurriendo a la familiaridad de los investigadores en la identificación en el campo (Hoss et al., 1992; Jácomo et al., 2004), aunque este método resulta poco fiable en algunos casos (Pompanon et al., 2011). Las fecas, particularmente, contienen células que se desprenden de la pared intestinal (Albaugh et al., 1992), por lo que son una fuente de ADN y pueden ser utilizadas para estudios con marcadores moleculares. Mediante el análisis genético del ADN extraído se puede determinar la especie y su dieta, determinar el sexo de cada individuo, evaluar los niveles de diversidad genética y cómo se distribuye; también es posible estimar tamaños poblacionales (Kohn et al., 1999; Palomares et al., 2002; Hedmark et al., 2004; Schwartz et al., 2004; Rodgers y Janečka, 2013).

## 1.2. **Barcoding y Metabarcoding para estudios de dieta en herbívoros**

La genética de la conservación cuenta con un conjunto de técnicas y marcadores genéticos que se pueden aplicar a la biología de la conservación y al manejo de la vida silvestre (González y Duarte, 2007), y son útiles para responder preguntas ecológicas sobre distintas especies.

El concepto de **barcoding de ADN** fue introducido por Hebert (2003). El autor propone el desarrollo de un sistema por el cual se logra asignar un taxón a una muestra, a partir del análisis de una región estandarizada del genoma. La región del genoma ideal debería cumplir con las siguientes características: (1) debe ser lo suficientemente variable para discriminar entre especies, pero a la vez lo suficientemente conservado dentro de la misma especie; (2) debe ser estandarizado, con la misma región de ADN utilizada para diferentes grupos taxonómicos; (3) la región blanco debe contener información filogenética suficiente para fácilmente asignar las especies a su grupo taxonómico (género, familia, etc); (4) debe ser extremadamente robusto, con regiones para los cebadores altamente conservados y con amplificaciones y secuenciaciones del ADN muy confiables.

El concepto de **metabarcoding** (Taberlet et al., 2012) se refiere al estudio de muestras complejas que contienen una mezcla de especies para ser identificadas al mismo tiempo con métodos de secuenciación de próxima generación (NGS de su sigla en inglés). En el metabarcoding la región blanco del ADN, debería ser lo suficientemente corto para permitir la amplificación del ADN degradado.

La utilización de técnicas moleculares donde la asignación taxonómica se realiza sobre la base de secuencias de ADN, reduce errores en la identificación taxonómica (Foran et al., 1997; Taberlet et al., 1999; Waits y Paetkau, 2005), permitiendo un registro taxonómico más preciso que con técnicas clásicas de microhistología (Taberlet et al., 2007) dónde la identificación se basa en las características morfológicas de los fragmentos vegetales encontrados en las fecas como son los estomas, pelos y espinas (Cosse, 2001). El ADN contenido en las fecas puede ser

amplificado por PCR permitiendo una rápida generación de grandes cantidades de información genética, y mediante la generación de colecciones y secuencias de referencia (vouchers y secuencias especie-específicas), cada muestra puede ser correctamente identificada (Kohn y Wayne, 1997; Taberlet et al., 1999; Davison et al., 2002; Kurose et al., 2005; Waits y Paetkau, 2005; Garshelis, 2006; Geffen et al., 2007; González et al., 2009).

Mediante la estandarización de una metodología basada en secuenciación masiva y determinación taxonómica en base a ADN, a partir de muestras no invasivas se pueden abordar preguntas relacionadas con los componentes de la dieta de animales herbívoros (Hartvig et al., 2020; Kartzinel et al., 2015; Pompanon et al., 2011). Esta información puede generar insumos para la comprensión del impacto del cambio en el uso del suelo en especies claves para la funcionalidad de los ecosistemas como son los mamíferos silvestres (Pompanon, 2012).

Un marcador ampliamente utilizado en el metabarcoding del ADN de vegetales, es el intrón *trnL* (UAA) P6 loop del cloroplasto (Taberlet et al., 2007), representa un fragmento pequeño que va de 10 a 143 pares de bases en distintas especies y presenta varias ventajas: i) los cebadores son altamente conservados; ii) el sistema de amplificación es muy robusto; iii) el loop P6 puede ser amplificado incluso utilizando ADN degradado de alimento procesado o de muestras *permafrost*. Es por esto que se utilizan extensivamente en la industria alimenticia, la ciencia forense, análisis de dieta basado en fecas y estudios de ADN antiguo (Taberlet, 2006).

El estudio de los aspectos tróficos es un insumo importante para comprender el impacto que genera la especie en los ecosistemas naturales y cultivados (DeBlase y Martin, 1981). Como no existen estudios previos de la dieta de esta especie en Uruguay, esta tesina pretende contribuir a profundizar el conocimiento aportando información para la conservación de la especie y de su hábitat natural en el Parque Salus (Lavalleja, Uruguay); y a su vez, representa el primer estudio de dieta de *M. gouazoubira* mediante la utilización de metabarcoding de ADN.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. General**

Establecer la utilidad de la secuenciación masiva de un fragmento del intrón P6 loop del *trnL* (UAA) del cloroplasto a partir de ADN de fecas, para el análisis de la dieta del guazubirá (*M. gouazoubira*) en un paisaje serrano de Lavalleja, Uruguay.

### **2.2. Específicos**

Caracterizar la dieta del guazubirá (*M. gouazoubira*) mediante la utilización de técnicas moleculares.

- Identificar la existencia de diferencias cualitativas en la dieta en función de la estación del año.
- Evaluar la diversidad, solapamiento y amplitud de nicho de la dieta en dos estaciones (invernal y estival).

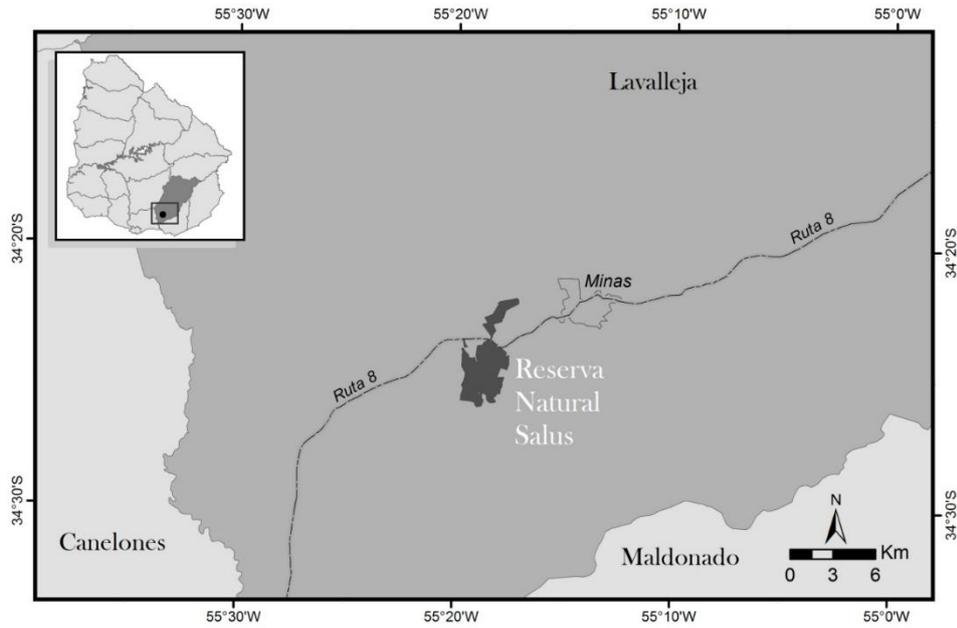
### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Área de estudio

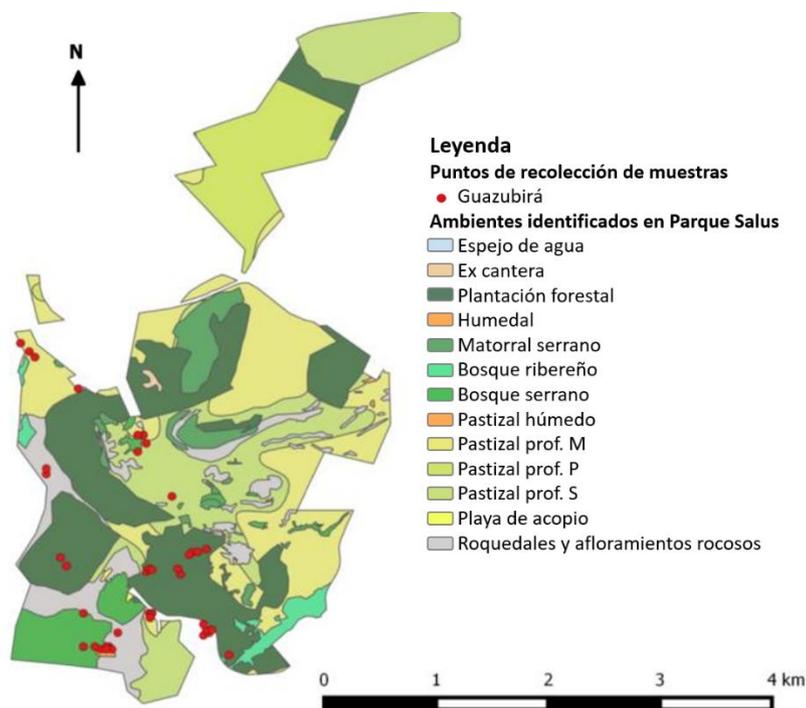
El presente trabajo se realizó en el Parque Salus, en un área de 1500ha ubicada en el km 109,5 de la ruta 8, al suroeste de la ciudad de Minas en el departamento de Lavalleja, Uruguay (34°23'36,79"S; 55°18'58,54"O).

Originariamente este lugar estaba conformado por bosques nativos serrano y ribereño. En relación con la flora leñosa presente, el bosque serrano presentaba predominio de tala (*Celtis tala*; *Celtis iguanaea*), canelón ferrugíneo (*Myrsine coriacea*), azara (*Azara uruguayensis*), molle (*Schinus longifolia*), arrayán (*Blepharocalyx salicifolius*), aruera (*Lithraea brasiliensis*), coronilla (*Scutia buxifolia*), murta (*Myrceugenia glaucescens*), zarzaparrilla (*Smilax campestris*), chirca de monte (*Dodonaea viscosa*). En el bosque ribereño, se encontraban el ceibo (*Erythrina crista-galli*), sauce (*Salix humboldtiana*), blanquillo (*Sebastiania schottiana*; *Sebastiania commersoniana*), chal chal (*Allophylus edulis*), y mataojo (*Pouteria salicifolia*). Actualmente, ambos tipos de bosques están siendo redeados por forestación de especies exóticas como el eucalipto (*Eucalyptus sp.*) y el pino (*Pinus sp.*). De igual modo se ha registrado la aparición de especies invasoras como el ligustro (*Ligustrum lucidum*), el crategus (*Pyracantha coccinea*) y la zarzamora (*Rubus ulmifolius*) (A. Rodríguez, comunicación personal, junio de 2017).

La recolección de muestras (fecas) se realizó en: bosque serrano, afloramientos rocosos y plantaciones de pino, tomando en cuenta la predominancia de especies vegetales y paisaje en cada caso. El área de estudio cubrió una superficie total de 1300 ha (<http://www.salus.com.uy/reservasalus>). Los diferentes ambientes que se encuentran en la zona, así como los puntos georreferenciados de los sitios de muestreo se muestran en las Figuras 3.1. y 3.2.



**Figura 3.1.** Ubicación del área de estudio, Parque Salus, dentro del departamento de Lavalleja, Uruguay.



**Figura 3.2.** Mapa de los ambientes del Parque Salus y sitios de recolección de muestras de *M. gouazoubira*.

### 3.2. Estrategia de muestreo

En cada sitio de muestreo (bosque serrano, plantación de pino y afloramientos rocosos) se colocaron al azar tres transectas de 10 m de longitud, separadas entre sí por un mínimo de 20 m. Las transectas se colocaron dentro de los senderos habitualmente frecuentados por guazubirá (A. Rodríguez, comunicación personal, junio de 2017). La presencia de guazubirá puede ser determinada en base a sus rastros, ya sean huellas y/o fecas (Figuras 3.3. y 3.4.).

A lo largo de las transectas se recolectaron muestras de fecas de cada montículo observado (Figura 3.3) y las muestras fueron conservadas en alcohol al 70%. Dichas muestras fueron identificadas a simple vista como pertenecientes a la especie en estudio (*M. gouazoubira*) y posteriormente se confirmó mediante estudios genéticos realizados por Aristimuño (2013).



**Figura 3.3.** Fecas de *Mazama gouazoubira*



**Figura 3.4.** Huellas de *Mazama gouazoubira*

Se realizaron dos muestreos, uno en otoño-invierno (estación invernal) y otro en primavera-verano (estación estival) del mismo año, en los cuales se repitieron los recorridos a lo largo de las transectas establecidas.

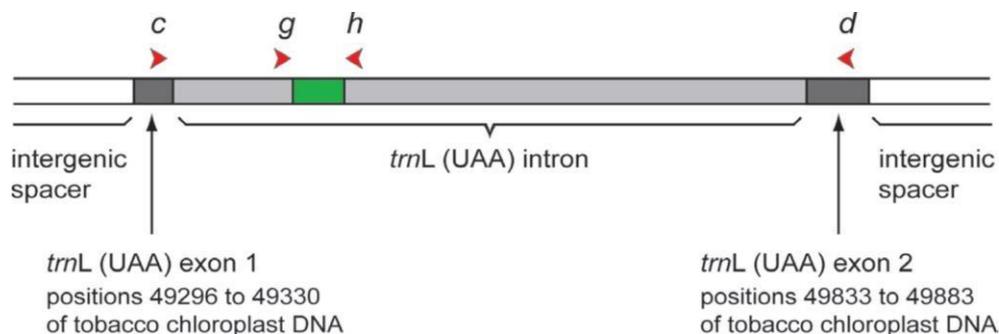
### 3.3. Extracción de ADN y PCR

Las fecas contienen restos vegetales de lo ingerido por el animal, por lo tanto, es posible la extracción y purificación de ADN vegetal a partir de las mismas (Pompanon et al., 2011). La extracción de ADN se realizó siguiendo el protocolo del Stool Kit QIAGEN®. Se utilizaron materiales estériles y guantes durante el proceso para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación.

Para cuantificar y verificar la calidad del ADN extraído a partir de las fecas se utilizó un espectrofotómetro NanoDrop® 1000, que provee información acerca de la concentración de ADN de la muestra (ng/μl) a través de la medida de absorbancia a 260 nm. Además, permite detectar la presencia de impurezas a través de la relación de absorbancia a 260 nm /280 nm (valores  $\geq 1.80$ , indican que la muestra es ADN en alto grado de pureza,  $\geq 2.00$  indican que existe una mayor concentración de ARN, y valores  $< 1.80$  demuestran presencia de proteínas).

Se realizaron experimentos de amplificación utilizando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con el objetivo de amplificar un fragmento en el entorno de las 141 pb correspondiente al intrón del gen *trnL* (UAA) del cloroplasto, que comprende el sitio c - h que se puede observar en la Figura 3.5., utilizando los cebadores descritos en Taberlet et al. (2007) (Tabla 3.1.).

El PCR se realizó en un volumen final de 10 μl, conteniendo 1x buffer Invitrogen, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 de BSA, 0,05 mM de cada dNTP, 0,5 pM de cada cebador (el cebador forward incluía el barcode para Ion Torrent BC57), 0,25 U de ADN Taq Polimerasa (Invitrogen), y 1ul de ADN (Taberlet et al., 2007). Las condiciones del termociclado se describen en la Tabla 3.2.



**Figura 3.5.** Posición de los cebadores de la PCR c, d, g y h en el gen del cloroplasto *trnL* (UAA). La región que se amplificará en este trabajo es la que se amplifica con los primers c y h, tomado de Taberlet et al. 2007

**Tabla 3.1.** Secuencias del par de cebadores c y h que amplifica el intrón trnL (UAA).

Nombre	Secuencia 5'-3'
c (forward) h (reverse)	CGAAATCGGTAGACGCTACG CCATTGAGTCTCTGCACCTATC

**Tabla 3.2.** Condiciones del ciclo de termociclado.

Pasos	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización Inicial	94°	3 min	1
Desnaturalización	94°	45 seg	
Asociación	54,5°	30 seg	35
Extensión	72°	60 seg	
Extensión	72°	20 min	1

### 3.4. Análisis bioinformáticos

Para analizar los fragmentos obtenidos a través de la amplificación por PCR y así identificar a las especies presentes en la muestra, fue necesario secuenciar los productos. La secuenciación consiste en determinar el orden de las bases nitrogenadas (A, C, G y T) en un fragmento de ADN. Hay diversos tipos de tecnologías de secuenciación que son utilizados en la actualidad: la clásica secuenciación de Sanger y la secuenciación de próxima generación (NGS por sus siglas en inglés: Next Generation Sequencing), entre otras (Grattarola, 2015).

La secuenciación masiva o de próxima generación (NGS) se realizó en plataforma IonTorrent-PGM® (Life Technologies) del IIBCE con un chip 316. Todos los productos obtenidos por PCR de una misma estación y un mismo sitio de muestreo fueron unidos en una única muestra y siguiendo los protocolos para NGS según Moreno et al. (2016), con una cobertura de 5000x. Las lecturas obtenidas fueron filtradas por calidad y largo mediante la herramienta SICKLE. El grupo de bioinformática del Instituto de Higiene desarrolló Scripts locales para el análisis de las lecturas obtenidas. Las lecturas no redundantes fueron alineadas con el programa MUSCLE y se realizó un Blastn con la base de secuencias de referencia construida (secuencias generadas en este proyecto y las que están disponibles en la base de datos pública GenBank).

Las especies encontradas en la dieta fueron analizadas por estación y sitio de muestreo. En los casos en que el marcador no presentó una buena resolución taxonómica se establecieron OTUs (Unidades taxonómicas operativas).

El análisis de la dieta se realizó utilizando la matriz de elementos consumidos que se corresponde con el número de distintas OTUs validadas en cada muestra.

### 3.5. Análisis estadísticos y otros análisis

#### Porcentaje de Ocurrencia

Se utilizó la fórmula

$$\%O = FO \times 100/N$$

para calcular la frecuencia con la que aparecieron los diferentes ítems en la dieta de *M. gouazoubira*.

El %O involucra la proporción en cada pool de fecas del número de reads donde apareció el ítem (FO) (ver Anexo II) multiplicado por 100 y dividido por la suma de frecuencias de ocurrencia de todas las categorías (N).

Para analizar la capacidad de dispersión de semillas por parte de los cérvidos, se evaluó las preferencias de *M. gouazoubira* por cada especie vegetal en relación con momento de fructificación. Para esto se realizó una tabla con las épocas de fructificación de las especies y/o géneros vegetales que se registraron en las muestras.

#### Heterogeneidad

Simpson (1949) propuso un concepto de diversidad que combina la riqueza y la igualdad de especies.

El término de heterogeneidad fue primeramente aplicado con este concepto por Good (1953) y los ecólogos lo relacionan con el concepto de diversidad (Hurlbert, 1971). La heterogeneidad es muy utilizada en ecología, ya que es relativamente fácil de medir.

Los índices que aquí utilizamos son: el índice de diversidad recíproco de Simpson, de Shannon-Wiener (Shannon y Weaver, 1949) de igualdad de especies en común y el de Brillouin (Krebs, 1989).

#### Índice de Simpson

Según Simpson, la diversidad es inversamente proporcional a la probabilidad de tomar 2 individuos al azar y que pertenezcan a la misma especie. Para una población infinita sería:

$$D = \sum p_i^2$$

donde:

D = índice original de Simpson,  $p_i$  = proporción de especies  $i$  en la comunidad

Para convertir esta probabilidad en una medida de diversidad, se utiliza el complementario de Simpson:

$$\frac{1}{D} = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

El índice de diversidad de Simpson es igual a la probabilidad de tomar dos organismos al azar y que sean de especies diferentes. Cuanto mayor es este índice es menor la diversidad. Como este concepto es contra-intuitivo, se pasó a utilizar  $1 - D$ .

En este caso, el valor del índice también oscila entre 0 y 1, pero ahora, cuanto mayor es el valor, mayor es la diversidad de la muestra. El índice de Simpson ( $1 - D$ ) tiene un rango que va de 0 (baja diversidad) a casi 1 ( $1 - 1/s$ ).

### **Amplitud de Nicho**

Algunas plantas y animales son más especializadas que otras y las medias de amplitud de nicho permiten medir esto cuantitativamente. La amplitud de nicho se puede medir observando la distribución individual de los organismos dentro de un conjunto de estados de recurso. La *matriz de recurso* (Colwell y Futuyma, 1971) asigna especies a las líneas y estados de recurso a las columnas.

### Medida de Levins

Levins (1968) propuso que la amplitud de nicho se estime midiendo la uniformidad de la distribución de los individuos entre los estados de recurso.

Sugirió para medir esto:

$$\hat{B} = \frac{1}{\sum \hat{p}_j^2}$$

donde:

$\hat{B}$  = Medida de Levins de amplitud de nicho

$\hat{p}_j$  = Proporción de individuos encontrados o utilizando un estado de recurso  $j$

### Medida de Shannon- Wiener

Colwell y Futuyma (1971) sugirieron la fórmula Shannon-Wiener como medida de amplitud de nicho. Con la matriz de recurso, la fórmula es:

$$H' = -\sum \hat{p}_j \log \hat{p}_j$$

donde:

$H'$  = Medida de Shannon-Wiener de amplitud de nicho

$p_j$  = proporción de individuos encontrados en o utilizado el recurso  $j$  ( $j= 1, 2, 3 \dots n$ )  $n$   
= número total de estados de recurso y puede utilizarse cualquier base de logaritmos.

Como la medida de Shannon-Wiener puede medir entre 0 e  $\infty$ , se podría estandarizar en una escala de 0-1. Esto se logra utilizando la medida de igualdad  $J'$ :

$$J' = \frac{\text{Medida de amplitud de nicho de Shannon observada}}{\text{Medida de Shannon máxima}} = \frac{H'}{\log n}$$

donde:

$J'$  = Medida de igualdad de Shannon-Wiener  $n$  = Número total de estados de recurso.

La función de Shannon-Wiener se utiliza menos frecuentemente que la medida de Levins para medir la amplitud de nicho. Hurlbert (1978) argumenta en contra de la medida de Shannon porque no tiene una interpretación ecológica simple y a favor de la medida de Levins. La medida de Shannon-Wiener dará más información sobre la rareza de recursos y la medida de Levins dará más información sobre la abundancia de los recursos utilizados por una especie.

### **Solapamiento de Nicho**

Una manera para comprender la organización de la comunidad es medir el solapamiento del recurso utilizado por las diferentes especies en el gremio de la comunidad. Los recursos más comúnmente medidos para calcular el solapamiento son el tiempo, el alimento y el espacio (o microhabitat) (Krebs, 1989). En este caso, el índice de solapamiento entre las dietas de *M. gouazoubira* invernal y estival nos dará una idea del grado de similitud entre las mismas.

### Medida de Morisita

El índice de similitud de Morisita sugerido por Morisita (1959) puede ser utilizada como medida de solapamiento de nicho. En este caso se utilizó el índice de Morisita simplificado que toma valores que van de 0 a 1 y que se calcula según la fórmula:

$$\hat{C}_H = \frac{2\sum \hat{p}_{ij}\hat{p}_{ik}}{\sum \hat{p}_{ij}^2 + \sum \hat{p}_{ik}^2}$$

donde:

$C$  = Índice simplificado de Morisita de solapamiento de nicho entre las especies  $j$  y  $k$   
 $p_j$  = proporción del recurso  $i$  sobre el total de recursos usado por la especie  $j$

$p_k$  = proporción del recurso  $i$  sobre el total de recursos usado por la especie  $k$

$n$  = número total de estados de recurso

El índice de Morisita simplificado mostró ser bastante preciso en muestras replicadas al azar (Krebs, 1999). En nuestro caso se utilizarán la proporción de *reads* para cada especie en cada una de las muestras.

## 4. RESULTADOS

De las muestras recolectadas y luego de la extracción y del estudio de la calidad del ADN presente en las mismas, nos quedamos con 9 muestras correspondientes al muestreo estival y 3 muestras correspondientes al muestreo invernal.

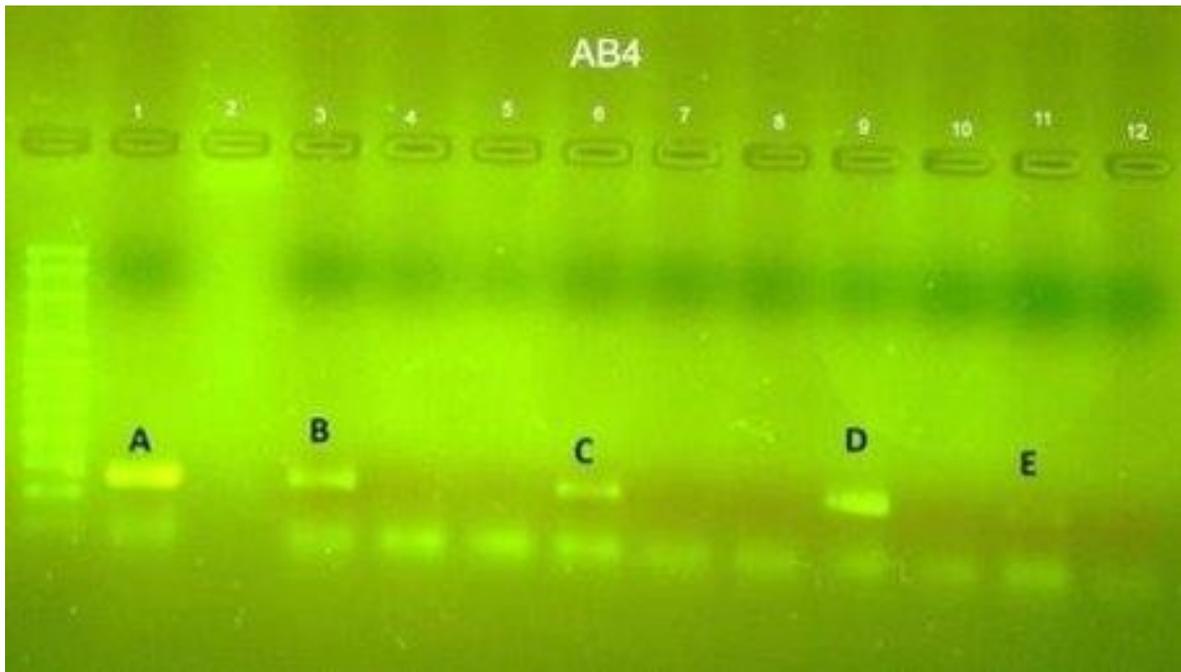
**Tabla 4.1.** Lista de muestras utilizadas para extracción de ADN. Se detalla la relación 260/280 y la concentración de ADN obtenido con Nanodrop. Se incluye el período de colecta de cada muestra.

<b>Id. Muestra fecal</b>	<b>Muestreo</b>	<b>260/280</b>	<b>ng/uL</b>
M6	Estival	1,79	27,2
MSG92	Estival	2,01	109,1
MSG96	Estival	1,76	67,8
MSG99	Estival	1,99	26,3
MSG104	Estival	1,52	35,1
MSG110	Estival	2,21	27,6
MSG111	Estival	1,95	70,4
MSG115	Estival	1,94	29,9
MSG116	Estival	1,68	80
MSG118	Estival	1,76	63,9
Y7	Invernal	5,28	3,6
Y9	Invernal	-	54,24
W10	Invernal	1,71	4,7

### 4.1. Extracción de ADN y PCR

Se logró extraer ADN de buena calidad todas las muestras utilizadas (Tabla 4.1.). Se utilizó como control positivo, el ADN de una planta de uva (M6). En la mayoría de las muestras se obtuvo una relación 260/280 > que 1,8, lo que indica que contienen un ADN con alto grado de pureza y su concentración fue la adecuada.

Los productos amplificados por PCR fueron visualizados en gel de agarosa al 2%. Las bandas que se obtuvieron tenían un tamaño de entre 100 y 200 pares de bases (Figura 4.1.).



**Figura 4.1.** Gel de agarosa al 2% de los productos del PCR de (A) M6 (control positivo), (B) MSG99, (C) MSG104, (D) MSG110 y (E) MSG115.

#### 4.2. Análisis de secuencias

El 33% de las especies vegetales presentes en el Parque Salus están disponibles en las bases de secuencias públicas (GenBank), mientras que a nivel de género se encontró un 49% (Anexo 1, Tabla A1). Todas las familias están representadas en la base de referencia.

En el muestreo estival se obtuvieron 2455 secuencias que representaban 9 familias. A nivel de géneros, se encontraron 17 con una representación mayor al 1% de las secuencias obtenidas (Tabla 4.2.). A nivel de especie se determinó *Cissus striata* (zarzaparrilla). Para el muestreo invernal fueron 648 secuencias que comprendían 7 familias y 9 géneros, y 4 fueron las especies identificadas: *Gleditsia triacanthos* (gleditsia), *Polygala sp.* (lechera del cabo), *Polygala fortuneana* (similar al Crataegus) y *Rubus ulmifolius* (zarzamora) (Tabla 4.2. y Tabla 4.3.). No se identificaron secuencias correspondientes a *Pinus pinaster*, a pesar de que se recolectaron muestras en este ambiente (bosque de pino) y este género aparece en la base de datos del GenBank.

**Tabla 4.2.** Especies y/o géneros de plantas que aparecieron en los diferentes muestreos, su origen (nativo/exótico) y el tipo vegetal al que corresponden. Cuando un género presenta especies nativas y exóticas se marcan ambas categorías.

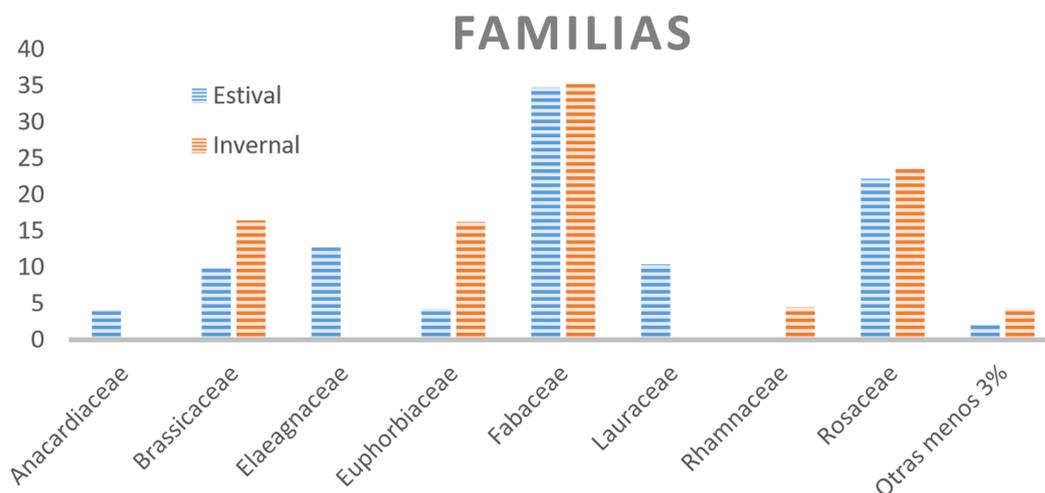
Época de muestreo	Muestreo Invernal		Muestreo Estival		Tipo vegetal
Género/especie	Nativo	Exótico	Nativo	Exótico	
<i>Schinus</i>					Árbol
<i>Polygala</i>					Arbusto
<i>Cissus striata</i>					Herbácea
<i>Gleditsia triacanthos</i>					Árbol
<i>Pyracantha fortuneana</i>					Arbusto
<i>Rubus ulmifolius</i>					Arbusto
<i>Cotoneaster</i>					Arbusto
<i>Ligustrum</i>					Árbol
<i>Pyracantha</i>					Arbusto
<i>Rubus</i>					Arbusto
<i>Setaria</i>					Herbácea
<i>Acacia</i>					Árbol o Arbusto
<i>Crataegus</i>					Arbusto
<i>Desmanthus</i>					Herbácea o Subarbusto
<i>Euphorbia</i>					Herbácea
<i>Gleditsia</i>					Árbol
<i>Myriophyllum</i>					Planta acuática
<i>Tragia</i>					Herbácea

**Tabla 4.3.** Porcentajes en número de *reads* para las familias vegetales presentes en la dieta de *M. gouazoubira*, en ambos períodos. FO (números de *reads*) y %O (porcentaje de ocurrencia). Se incluyeron las familias que estaban representadas con más de un 1% de las secuencias.

Época	Muestreo invernal		Muestreo estival	
Familia	FO	%O	FO	%O
Anacardiaceae	0	0,00	96	3,97
Betulaceae	15	2,53	0	0,00
Brassicaceae	97	16,36	238	9,85
Cleomaceae	0	0,00	12	0,50
Eleagnaceae	0	0,00	306	12,66
Euphorbiaceae	96	16,19	102	4,22
Fabaceae	209	35,24	839	34,71
Lauraceae	0	0,00	250	10,34
Meliaceae	10	1,69	38	1,57
Rhamnaceae	26	4,38	0	0,00
Rosaceae	140	23,61	536	22,18

TOTAL	593	100	2417	100
-------	-----	-----	------	-----

A partir de los porcentajes indicados en la Tabla 4.3., se realizó una gráfica en la cual se comparan los resultados obtenidos a nivel de familias vegetales, durante ambos muestreos (Figura 4.2.).



**Figura 4.2.** Gráfica de familias vegetales presentes en la dieta de *M. gouazoubira* en ambos muestreos.

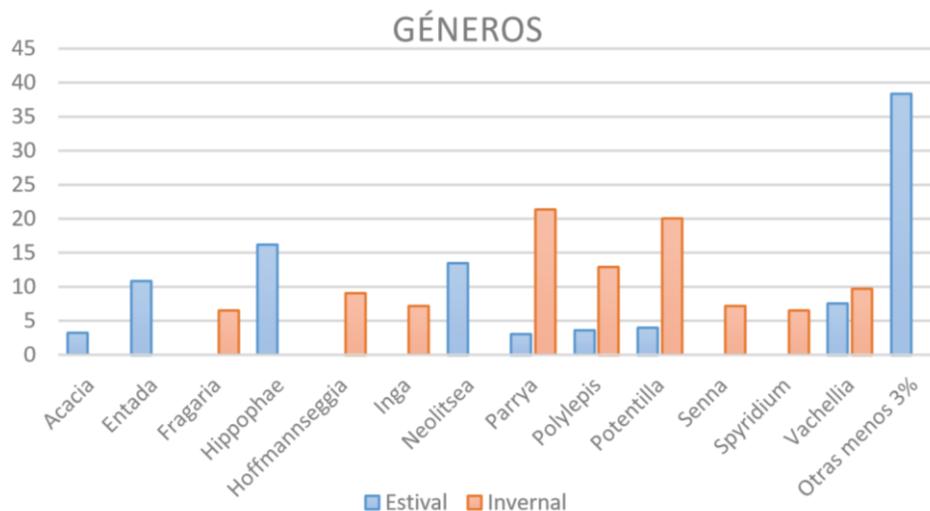
En el muestreo invernal (Tabla 4.3., Figura 4.2.), la familia con mayor porcentaje de ocurrencia fue Fabaceae, seguida de Rosaceae; y las familias con menor porcentaje de ocurrencia fueron Meliaceae y Betulaceae. Las familias con mayor frecuencia de ocurrencia en el muestreo estival (Tabla 4.3., Figura 4.2.) fueron Fabaceae y Rosaceae, mientras que las que tuvieron menor frecuencia de ocurrencia fueron Cleomaceae, Meliaceae y Anacardiaceae.

Algunas familias de plantas aparecen en las muestras de ambos períodos (Tabla 4.3., Figura 4.2.), con un porcentaje similar, como Fabaceae y Rosaceae. Brassicaceae y Euphorbiaceae también aparecieron en ambos muestreos, pero en porcentajes diferentes (Tabla 4.3., Figura 4.2.). Algunas familias se encontraron sólo en el muestreo estival como Anacardiaceae, Elaeagnaceae, Lauraceae, y otras sólo se encontraron en el muestreo invernal (Rhamnaceae y Betulaceae).

**Tabla 4.4.** Porcentajes en número de *reads* para los géneros vegetales presentes en la dieta de *M. gouazoubira*, en ambos periodos. FO (números de *reads*) y %O (porcentaje de ocurrencia). Se incluyeron los géneros que estaban representadas con más de un 1% de las secuencias.

Género	Muestreo inveral		Muestreo estival	
	FO (número de reads)	% O	FO (número de reads)	% O
<i>Acacia</i>			59	3,9
<i>Acaena</i>			40	2,6
<i>Cedrela</i>			27	1,8
<i>Dryas</i>			25	1,7
<i>Entada</i>			201	13,3
<i>Eutrema</i>			44	2,9
<i>Fragaria</i>	10	6,5		
<i>Hippophae</i>			300	19,9
<i>Hoffmannseggia</i>	14	9,03		
<i>Inga</i>	11	7,1	48	3,1
<i>Neolitsea</i>			250	16,6
<i>Parrya</i>	33	21,3	56	3,7
<i>Photinia</i>			40	2,6
<i>Polylepis</i>	20	12,9	66	4,4
<i>Potentilla</i>	31	20	74	4,9
<i>Senna</i>	11	7,1		
<i>Sorbus</i>			40	2,6
<i>Spyridium</i>	10	6,5		
<i>Thysanocarpus</i>			47	3,1
<i>Toxicodendron</i>			50	3,3
<i>Vachellia</i>	15	9,7	140	9,3
<b>Total</b>	<b>155</b>	<b>100</b>	<b>1507</b>	<b>100</b>

Se graficaron los porcentajes obtenidos a nivel de género para ambos muestreos (Figura 4.3., Tabla 4.4.).



**Figura 4.3.** Gráfica de géneros vegetales presentes en la dieta de *M. gouazoubira* en ambos periodos.

Los géneros de plantas presentes en ambos muestreos (Tabla 4.4., Figura 4.3.) fueron *Parrya*, *Polylepis*, *Potentilla* y *Vachellia*. Mientras que este último fue identificado de forma pareja entre ambas estaciones, los restantes tres géneros fueron registrados en mayor porcentaje en la temporada invernal.

Los cuatro géneros se encontraron en el muestreo estival (Tabla 4.4., Figura 4.3.) fueron *Acacia*, *Entada*, *Hippophae* y *Neolitsea*. Los géneros con mayor frecuencia de ocurrencia en este muestreo fueron *Hippophae* y *Neolitsea*, y los de menor frecuencia de ocurrencia fueron *Dryas* y *Cedrela*.

Finalmente se encontraron únicamente en el muestreo invernal (Tabla 4.4., Figura 4.3.) otros cinco géneros: *Fragaria*, *Hoffmannseggia*, *Inga*, *Senna* y *Spyridium*. El mayor porcentaje de ocurrencia durante este muestreo lo tuvieron *Parrya* y *Potentilla*, mientras que los géneros con menor porcentaje fueron *Spyridium* y *Fragaria*.

Del total los géneros que se registraron en la dieta de *M. gouazoubira*, predominaron los de hábitos arbustivos (7 géneros), seguidos por las herbáceas (5 géneros) y los árboles (4 géneros). Las plantas acuáticas se encontraron en muy baja proporción (1 género). La mayoría de los géneros de arbustos formaron parte exclusivamente del muestreo invernal, salvo *Cotoneaster* que apareció en ambos muestreos. Los géneros correspondientes a los distintos hábitos mencionados se presentan en la Tabla 4.2.

En la Tabla 4.5. podemos ver las épocas de floración y/o fructificación de las especies y/o géneros de plantas presentes en la dieta de *M. guazoubira* y la época de consumo de las mismas en base a los hallazgos dentro de las fecas analizadas. Para 8 de las 18 de las especies y/o géneros indentificados, la fecha de recolección coincide con el momento en que se encontraba con frutos (Tabla 4.5.): géneros *Acacia* y *Polygala* y las especies *Cissus striata*, *Schinus engleri*, *Crategus sp.*, *Gleditsia triacanthos*, *Ligustrum lucidum* y *Pyracantha coccinea*. Las últimas cuatro mencionadas refieren a especies exóticas invasoras, y las restantes a especies nativas.

**Tabla 4.5.** Lista de especies de interés por el rol que pueden tener los ciervos como dispersores de semillas. Referencias: sp.: determinación molecular a nivel de especie; gen.: determinación molecular a nivel de género. Color azul: época de floración; color fucsia: época de fructificación; color amarillo: muestreo donde se detectó consumo.

Estación Especie/Mes	VERANO			OTOÑO			INVIERNO			PRIMAVERA		
	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<b>Nativas</b>												
<i>Acacia bonariensis</i>	[Azul]		[Fucsia]	[Fucsia]		gen.						
<i>Acacia caven</i>	[Fucsia]			[Fucsia]				[Fucsia]			[Azul]	
<i>Cissus striata</i>	[Azul]										[Azul]	
<i>Desmanthus virgatus</i>		[Azul]				gen.						
<i>Euphorbia hirtella</i>				[Azul]		gen.						
<i>Euphorbia caespitosa</i>						gen.						
<i>Euphorbia collina</i>	[Azul]					gen.						[Azul]
<i>Polygala cyparissias</i>	[Azul]											[Azul]
<i>Polygala bonariensis</i>				[Azul]								gen.
<i>Polygala linoides</i>	[Azul]			[Azul]							[Azul]	gen.
<i>Schinus engleri</i>						gen.			[Azul]	[Azul]		gen.
<b>Exóticas</b>												
<i>Acacia dealbata</i>						gen.					[Azul]	[Azul]
<i>Cotoneaster salicifolia</i>	[Fucsia]			[Fucsia]				[Fucsia]				gen.
<i>Crataegus sp.</i>			[Fucsia]	[Fucsia]			gen.			[Azul]	[Azul]	[Azul]
<i>Gleditsia triacanthos</i>	[Fucsia]			[Fucsia]				[Fucsia]			[Azul]	[Azul]
<i>Ligustrum lucidum</i>	[Azul]						[Fucsia]	[Fucsia]			[Fucsia]	gen.
<i>Pyracantha coccinea</i>			[Fucsia]	[Fucsia]			gen.				[Azul]	[Azul]
<i>Rubus ulmifolius</i>	[Azul]		[Fucsia]			gen.						

### 4.3. Diversidad de la dieta

Los valores de diversidad de la dieta fueron mayores para el muestreo estival en relación con el invernal, tanto a nivel de género como de familia (Tabla 4.6.).

**Tabla 4.6.** Valores obtenidos para evaluar la diversidad en la dieta de *M. gouazoubira*, tanto a nivel de género como de familia. Referencias: N = tamaño de muestra.

Diversidad	Muestreo Invernal	Muestreo Estival
<b>Género</b>		
Nro. Géneros	21	21
N	155	1507
Índice recíproco de Simpson	6,9	9,2
Límite de confianza (90%)	6,1-7,8	8,7-9,7
<b>Familias</b>		
Nro. Familias	7	9
N	593	2417
Índice recíproco de Simpson	4,2	4,7
Límite de confianza (90%)	3,9-4,5	4,5-4,9

La amplitud de nicho tanto para el Índice estandarizado de Levin como para la Medida de Shannon- Wiener mostró el mismo patrón, con valores mayores para el muestreo estival (Tabla 4.7.).

**Tabla 4.7.** Valores obtenidos para evaluar la amplitud de nicho en las dietas de *M. gouazoubira*, tanto a nivel de género como de familia. Referencias: N = tamaño de muestra.

Amplitud de nicho	Muestreo Invernal	Muestreo Estival
<b>Género</b>		
Nro. Géneros	21	21
N	2	2
Índice estandarizado de Levin	0,31	0,41
Medida de Shannon- Wiener	0,68	0,82
<b>Familias</b>		
Nro. Familias	11	11
N	593	2417
Índice estandarizado de Levin	0,32	0,38
Medida de Shannon- Wiener	0,67	0,74

El índice de solapamiento simplificado de Morisita tomó un valor de 0,28 para el solapamiento a nivel de los géneros encontrados en la dieta, mientras que cuando el análisis se hizo a nivel de familias pasó a 0,88.

## 5. DISCUSIÓN

Este estudio es el primero en analizar la dieta de guazubirá en Uruguay y el primero para la especie utilizando métodos moleculares. Previamente, los análisis de dieta han sido realizados por observación microhistológica de fragmentos vegetales (Gayot et al., 2004; Kufner et al., 2008; Serbent et al., 2011; Stalling, 1984).

Las técnicas moleculares demostraron ser de gran utilidad para la caracterización de la dieta del guazubirá. A pesar de los sesgos en los muestreos y del bajo porcentaje de especies y géneros de plantas del Parque Salus que están presentes en la base de datos del GenBank, se lograron identificar 11 familias, 21 géneros y 4 especies. Según Valentini, et al., (2008) el barcoding será una herramienta cada vez más utilizada en conservación, ya que no sólo permite identificar especies únicas a partir de un organismo o su resto, sino que también permite determinar la composición de especies en un ambiente, e incluso la composición de la dieta basada en el ADN. Por lo tanto, mejorar la base de datos de referencia se vuelve de suma importancia.

Los pastos nativos e introducidos producen gran cantidad de forraje disponible para los rumiantes, sin embargo, el guazubirá no hace un uso intensivo de ellos debido a sus hábitos alimenticios, ya que prefieren el ramoneo y las hierbas. Estudios previos (Kufner et al., 2008; Gallina, 1993) indican que los pastos no son seleccionados cuando hay suficiente disponibilidad de forraje proveniente de arbustos y hierbas o cuando se ha modificado la disponibilidad y calidad del forraje. Esto concuerda con los resultados aquí obtenidos que muestran una predominancia de plantas con hábitos arbustivos frente a las demás y en particular a los pastos, en la dieta de *M. gouazoubira*.

Los índices de diversidad y amplitud de nicho muestran mayores valores para los muestreos estivales, que fue el muestreo que también incluyó un mayor número de muestras. Sería importante mejorar los muestreos para confirmar que estos resultados se relacionan con la mayor variedad de especies palatables y no es un sesgo del muestreo. A nivel de familias la diferencia es bastante menor entre los muestreos, tanto en diversidad como en amplitud.

El solapamiento de las dietas muestra un solapamiento reducido (0,28) a nivel de género, lo que muestra una variación estacional de la dieta. A nivel de familias el solapamiento es mayor (0,88), lo que indicaría que no hay tanta variación estacional en los grandes grupos consumidos si no en relación con la disponibilidad de especies entre invierno y primavera-verano. Por otro lado, estudios previos de la dieta de esta especie en época de sequía en el Chaco de Córdoba propone una mayor selectividad por parte de los animales durante períodos de escasez de recursos, donde las plantas más palatables y de mayor valor nutricional están menos disponibles (Serbent et al., 2011).

Este ciervo consume tanto plantas nativas como exóticas, lo que refleja la capacidad de adaptación de esta especie a las modificaciones ambientales e influencias antropogénicas (Leeuwenberg et al., 1999; Voglioti, 2003). Además, la capacidad de

alimentación de *M. gouazoubira* de forma selectiva (sobre plantas leñosas y suculentas), así como de manera oportunista.

En los bosques de pino se recolectaron un gran número de muestras y en el de eucaliptus se observaron, aunque no se analizaron en este trabajo. Sin embargo, estos ítems no fueron identificados en la dieta, por lo que se podría concluir que estos ambientes seguramente sean utilizados por *M. gouazoubira* como refugio exclusivamente. Estos resultados también pueden deberse a la digestibilidad diferencial, en la cual los ciervos podrían presentar una capacidad de digerir diferente para distintas especies determinando que haya una proporción distinta en la amplificación a partir de las fecas por variación en el ADN disponible para cada especie que llega al intestino (Van Soest, 1994).

En los casos en que la época de fructificación y consumo coinciden, el ciervo podría estar dispersando a esa especie vegetal, eliminando las semillas a través de las fecas. Esto podría estar ocurriendo con los géneros *Acacia* y *Polygala* y las especies *Cissus striata*, *Schinus engleri*, *Crategus sp.*, *Gleditsia triacanthos*, *Ligustrum lucidum* y *Pyracantha coccinea*. La dispersión de las plantas de origen nativo, como *Cissus striata* (zarzaparrilla) y *Schinus engleri* (molle rastrero) sería favorable. Sin embargo, la dispersión de las últimas cuatro especies arriba mencionadas, que son exóticas e invasoras, no sería favorable para el ecosistema natural (DINAMA-MVOTMA, 2010).

No es muy claro lo que ocurre con *Rubus ulmifolius* (zarza mora), que no coinciden las épocas de fructificación y de consumo de esta especie por parte del guazubirá. Se tiende a suponer que el ciervo consume los frutos de esta planta, ya que son muy palatables. Aunque, quizás, consuman sólo las hojas de esta planta y en este caso, no la estarían dispersando.

Resaltamos finalmente la importancia de estos resultados que representan los primeros sobre la dieta de la especie, así como también remarcamos la necesidad de mejorar el esfuerzo de muestreo para que no existan sesgos vinculados al mismo de las distintas épocas, así como de los diferentes ambientes. Un estudio a largo plazo sería importante para ampliar el conocimiento sobre esta especie y sus hábitos, y así contribuir con información útil a la hora de tomar medidas de manejo para la conservación del guazubirá en la región.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Achaval, F., Clara, M. y Olmos, A. (2007). Mamíferos de la República Oriental del Uruguay. Montevideo: Biophoto
- Anderson, S. H. y Gutzwiller, K. L. (1996). Habitat evaluation methods 592-607pp. In: Book Hout (ed.). Research and Managment Tecniques for Wildlife and Habitat. Wildlife Society, Maryland.
- Benayas, J. M. R. et al. (2009). Enhancement of biodiversity and ecosystem services by ecological restoration: a meta-analysis. *Science*, 325(5944), 1121-1124.
- Black-Décima, P. (2000). Home Range, Social Structure, and Scent Marking Behavior in Brown Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*) in a large enclosure. *Mastozoología Neotropical*, 7 (1), 5-14.
- Black-Décima, P., et al. (2010) Brown brocket deer *Mazama gouazoubira* (Fischer 1814). In: Duarte JMB, Gonzalez S (eds) Neotropical Cervidology, Biology and Medicine of Latin American Deer. Funep/IUCN, 393p, pp. 190-201
- Black-Décima, P. y Vogliotti, A. (2016). *Mazama gouazoubira*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e. T29620A22154584. Downloaded on 22 Junio 2022, [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)
- Bodmer, R. E. (1989). Frugivory in Amazonian Artiodactyla: evidence for the evolution of the ruminant stomach. *Journal of Zoology*, 219(3), 457-467.
- Bodmer, R. E. (1991). Strategies of seed dispersal and seed predation in Amazonian ungulates. *Biotropica*, 255-261.
- Branan, W. V. (1985). Food habits of brocket and white - tailed deer in Suriname. *J.Wild Manage*, 49:972-976.
- Brazeiro, A. et al. (2008). Prioridad geográfica para la conservación de la biodiversidad terrestre de Uruguay. Resumen Ejecutivo Proyecto PDT 32-26.
- Brussa, C. (1989). Características del monte indígena. En: Jornada de conservación del Monte Indígena. (I, 1989, Montevideo) Facultad de Agronomía: 1-2
- Carrere, R. (2004). Monte Indígena. Mucho más que un conjunto de árboles. Montevideo: Brecha y Nordan.
- Chébez, C. y Johnson, A. (1984). Las corzuelas. CEAL Fauna Argentina, Buenos Aires, 77:1-33.

Cosse, M. (2001). *Dieta y solapamiento de la población de venad de campo "Los Ajos", (Ozotoceros bezoarticus L, 1758) (Artiodactyla: Cervidae)*. (Master of Science Degree Thesis Disertation), UdelR, Montevideo.

DeBlase, A. F. y Martin, R. E. (1981). *A Manual of Mammalogy*. Iowa: WMC Brown Company Publishers.

Demment, M. W. y Van Soest, P. J. (1985). A nutritional explanation for body-size patterns of ruminant and nonruminant herbivores. *American Naturalist*, 641-672.

Duarte, J.M.B. y González, S. (2010). *Neotropical Cervidology: Biology and Medicine of Latin American Deer*. Jaboticabal, Brazil: Funep and Gland, Switzerland: IUCN. 393 pp.

Eisenberg, J. F. y Redford, K. H. (1999). *Mammals of the neotropics: The central neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil*. University of Chicago, Chicago, Il.

Eisenberg, J. F. y Redford, K. H. (1992). *Mammals of the Neotropics, Volume 2: The Southern Cone: Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay (Vol. 2)*. University of Chicago Press.

Gayot M., Henry O., Dubost G., Sabatier D. (2004). Comparative diet of the two forest cervids of the genus *Mazama* in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology* **20 (01)**:31-43.

Gazzano, I. y Achkar, M. (2013). La necesidad de redefinir ambiente en el debate científico actual. *Revista Gestión y Ambiente*, 16(3), 7-15.

Geymonat, G. y Lombardi, R. (2012). *Fauna y Flora de los Bosques de Uruguay*. Montevideo: Mastergraph.

González, E. (2001). *Guía de Mamíferos del Uruguay*. Montevideo: Vida Silvestre.

González, E. y Martínez-Lanfranco, J. (2010). *Mamíferos de Uruguay. Guía de campo e introducción a su estudio y conservación*. Banda Oriental, Museo Nacional de Historia Natural, Vida Silvestre Uruguay, Montevideo.

Gordon, I. Y Illius, A. (1994). The functional significance of the browser-grazer dichotomy in African ruminants. *Oecologia*, 98 (2), 167-175.

Grattarola, F. (2015). *Aportes de la ecología molecular al estudio de mamíferos en Uruguay*. Tesis de maestría no publicada, UDELAR, Montevideo, Uruguay.

- Grotta-Neto, F., et al. (2019). Influential factors on gray brocket deer (*Mazama gouazoubira*) activity and movement in the Pantanal, Brazil. *Journal of Mammalogy*, 100 (2), 454-463
- Hanley, T. (1982). The Nutritional Basis for Food Selection by Ungulates. *Journal of Range Management*, 35(2), 146-151.
- Hartvig, I., et al. (2020). Diet of the European bison (*Bison bonasus*) in a forest habitat estimated by DNA barcoding. *Mammal Research*. doi: 10.1007/s13364-020-00541-8
- Hoss, M., et al. (1992). Excrement analysis by PCR. *Science*, 359:19
- Kartzinel, T. R., et al. (2015). DNA metabarcoding illuminates dietary niche partitioning by African large herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (26), 8019-8024. doi: 10.1073/pnas.1503283112.
- Kohn et al. (1999); 25 Palomares et al., 2002; Hedmark et al., 2004; Schwartz et al., 2004; Rodgers and Janečka, 2013.
- Krebs, C. J. (1989). *Ecological methodology*. New York: Harper & Row.
- Kufner M., Sepúlveda L., Gavier G., Madoery L., Giraudo L. (2008). Is the native deer *Mazama gouazoubira* threatened by competition for food with the exotic hare *Lepus europaeus* in the degraded Chaco in Córdoba, Argentina.+ *Journal of Arid Environments* **72 (12)**:2159-2167.
- Leeuwenberg et al. (1999). Gray brocket deer (*Mazama gouazoubira*) in the Brazilian savanna. *Deer Specialist Group News*. 15: 1-14.
- Lista de especies vegetales del Parque Salus. Bonifacino, A. (2016)
- Lineamientos para la gestión nacional de especies exóticas invasoras. DINAMA-MVOTMA (2010)
- Mandujano, S., et al. (2004). Variación estacional del uso y preferencia de los tipos vegetacionales por el venado cola blanca en un bosque tropical de Jalisco. *Acta Zool. Mex*, 20 (2).
- Mills, C. A., et al. (2016). Take only photographs, leave only footprints: novel applications of non-invasive survey methods for rapid detection of small, arboreal animals. *PLoS one*, 11(1), e0146142.

- Moreno, F., et al. (2016). Use of next-generation molecular tools in archaeological neotropical deer sample analysis. *Journal of Archaeological Science: Reports* 10:403-410.
- Periago, M. E. y Leynaud, G. (2009). Patrón de uso de hábitat de *Mazama*. *APRONA Bol. Cient.* 41: 17- 23.
- Pompanon, F., et al. (2011). Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Molecular ecology*, 21(8), 1931-1950. doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05403.x
- Ramírez-Lozano, R.G. (2012). Alimentación del Venado Cola Blanca: Biología y Ecología Nutricional. Editorial Plibrio, Indiana, EUA.
- Richard, E., et al. (1995). Hábitos frugívoros de la corzuela parda (*Mazama gouazoubira*, Fischer, 1814) (Mammalia-Cervidae), en un ambiente secundario de Yungas. *Doñana Acta Vertebrata*, 22 (1-2), 19-28
- Serbent M., et al. (2011). *Mazama gouazoubira* (Cervidae) diet during the dry season in the arid Chaco of Córdoba (Argentina). *Journal of Arid Environments* **75 (1)**:87-90.
- Shannon, C.E. y Weaver, W. (1949). The mathematical theory of communication. The University of Illinois. Urbana, Chicago, London. pp. 3–24.
- Soutullo, A., et al. (2013). *Especies prioritarias para la conservación en Uruguay. Vertebrados, mluscos continentales y plantas vasculares*. Montevideo: SNAP/DINAMA/MVOTMA Y DCYT/MEC.
- Stallings, J. R. (1984). Notes on feeding habits of *Mazama gouazoubira* in the Chaco Boreal of Paraguay. *Biotropica* **16 (2)**:155-157.
- Stool Kit QIAGEN®.
- Taberlet, P., et al. (1999). Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & y Evolution*, 14(8), 323-327.
- Taberlet, P., et al. (2007). Power and limitations of the chloroplast trnL (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic acids research*, 35(3), e14-e14.
- Taberlet, P., et al (2012). Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 21(8), 2045-2050.

- Uruguay 1980. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección Forestal Parque y Fauna. Carta Forestal actualizada y suelos de interés forestal. Escala 1: 20.000. Montevideo. s.p
- Van Soest, P. J. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. Comstock Pub., Ithaca.
- Vogliotti, A. (2003). História natural de Mazama bororo (Artiodactyla; Cervidae) através de etnozootologia, monitoramento fotográfico e rádio-telemetria (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Waits, L. P. y Paetkau, D. (2005). Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists: a review of applications and recommendations for accurate data collection. *Journal of Wildlife Management*, 69(4), 1419-1433.
- Wemmere, C., et al. (1986). Mammalian Signs.157-176 pp. In: Wilson, D.E., F. R. Cole, J. D. Nichols, R. Rudran y M.S. Foster (eds.). *Measuring and monitoring biological diversity: standard methods formammals*. Smithsonian Institution Press, Washington, D. C.



## 7. ANEXOS

### Anexo I:

**Tabla A1.** Lista de especies/géneros de flora identificados en el Parque Salus. Se especifica si la secuencia de la región trnL del cloroplasto se encontraba en GenBank en octubre de 2018 para el género o la especie considerada con “Sí”, y si no se encontraba con “No”).

Familia	Especie	Especie en GenBank	Género en GenBank
Cyperaceae	<i>Abildgaardia ovata</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Acaia dealbata</i>	No	No
Asteraceae	<i>Achyrocline saturodeoides</i>	No	No
Asteraceae	<i>Acmella decumbens</i>	No	No
Asteraceae	<i>Adenostema brasiliensis</i>	No	No
Fabaceae	<i>Adesmia latifolia</i>	No	si
Fabaceae	<i>Adesmia punctata</i>	No	si
Fabaceae	<i>Adesmia sp2</i>	No	si
Pteridaceae	<i>Adiantum thalictroides</i>	No	No
Orobanchaceae	<i>Agalinis communis</i>	No	No
Poaceae	<i>Agrostis montevidensis</i>	No	No
Poaceae	<i>Aira elegantissima</i>	No	No
Sapindaceae	<i>Allophylus edulis</i>	Sí	Sí
Xanthorrhoeaceae	<i>Aloe arborescens</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Ambrosia tenuifolia</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Andropogon lateralis</i>	No	No
Poaceae	<i>Andropogon ternatus</i>	No	No
Anemiaceae	<i>Anemia tomentosa</i>	No	No
Ranunculaceae	<i>Anemone decapetala var. decapetala</i>	No	No
Pteridaceae	<i>Anogramma chaerophylla</i>	No	No
Apiaceae	<i>Apium nodiflorum</i>	No	No
Poaceae	<i>Aristida circinalis</i>	No	No
Poaceae	<i>Aristida pallens</i>	No	No
Poaceae	<i>Aristida spp</i>	No	Sí
Apocynaceae	<i>Asclepias mellodora?</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Aspilia montevidensis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Asteraceae sp</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Axonopus compressus</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Axonopus sp2</i>	No	Sí
Malvaceae	<i>Ayenia mansfeldiana</i>	No	No
Salicaceae	<i>Azara uruguayensis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis aliena</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis anomala</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis argutum</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis articulata</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis coridifolia</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis crispa</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis cultrata</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis jocheniana</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis microcephala</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis microdonta</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis ochraceae</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis patens</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis pingrea</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis rufescens</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis spicata</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis tridentata</i>	No	No

Familia	Especie	Especie en GenBank	Género en GenBank
Asteraceae	<i>Baccharis trimera</i>	No	No
Asteraceae	<i>Baccharis triplernervia</i>	No	No
Plantaginaceae	<i>Bacopa monnieri</i>	Sí	Sí
Amaryllidaceae	<i>Beauverdia sellowiana</i>	No	No
Berberidaceae	<i>Berberis laurina</i>	No	No
Orchidaceae	<i>Bipinnula montana</i>	Sí	Sí
Gentianaceae	<i>Blackstonia perfoliata</i>	Sí	Sí
Blechnaceae	<i>Blechnum australe</i>	Sí	Sí
Myrtaceae	<i>Blepharocalyx salicifolia</i>	No	No
Rubiaceae	<i>Borreria dasycephala</i>	No	No
Poaceae	<i>Bothriochloa imperatoides</i>	No	No
Poaceae	<i>Bothriochloa laguroides</i>	No	No
Solanaceae	<i>Bouchetia anomala</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Bouteloua megapotamica</i>	Sí	Sí
Apiaceae	<i>Bowlesia incana</i>	No	No
Orchidaceae	<i>Brachystele camporum</i>	No	No
Poaceae	<i>Briza minor</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Briza subaristata</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Bromus brachyanthera</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Bromus catharticus</i>	Sí	Sí
Orobanchaceae	<i>Buchnera integrifolia</i>	No	No
Cyperaceae	<i>Bulbostylis juncooides</i>	Sí	Sí
Solanaceae	<i>Calibrachoa pubescens</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Carduus acanthoides</i>	Sí	Sí
Cyperaceae	<i>Carex bonariensis</i>	No	Sí
Cyperaceae	<i>Carex brongiaritii</i>	No	Sí
Cyperaceae	<i>Carex divulsa</i>	Sí	Sí
Cyperaceae	<i>Carex riparia</i>	Sí	Sí
Cyperaceae	<i>Carex sororia</i>	No	Sí
Pteridaceae	<i>Cassebeera tryphylla</i>	No	No
Cannabaceae	<i>Celtis iguanea</i>	No	No
Asteraceae	<i>Centaurea calcitrapa</i>	Sí	Sí
Gentianaceae	<i>Centaurium pulchellum</i>	Sí	Sí
Rubiaceae	<i>Cephalanthus glabratus</i>	Sí	Sí
Caryophyllaceae	<i>Cerastium glomeratum</i>	Sí	Sí
Caryophyllaceae	<i>Cerastium selloi</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Chaptalia arechavaletae</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Chaptalia exscapa</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Chaptalia integerrima</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Chaptalia pilosa</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Chaptalia sinuata</i>	No	Sí
Pteridaceae	<i>Cheilanthes micropteris</i>	No	No
Asteraceae	<i>Chevreulia acuminata</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Chevreulia sarmentosa</i>	No	Sí
Orchidaceae	<i>Chloreae membranacea</i>	No	No
Asteraceae	<i>Chrysolaena flexuosa</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Cirsium vulgare</i>	Sí	Sí
Vitaceae	<i>Cissus striata</i>	Sí	Sí
Ranunculaceae	<i>Clematis montevidensis</i>	No	No
Linaceae	<i>Cliococca sellagenoides</i>	No	No
Rhamnaceae	<i>Colletia paradoxa</i>	Sí	Sí
Commelinaceae	<i>Commelina erecta</i>	Sí	Sí
Convolvulaceae	<i>Convolvulacea trepadora</i>	No	No
Convolvulaceae	<i>Convolvulus hermanniae</i>	No	No
Asteraceae	<i>Conyza blakei</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Conyza bonariensis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Conyza monorchis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Conyza primulifolia</i>	No	No
Asteraceae	<i>Conyza sumatrensis</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Cortaderia selloana</i>	Sí	Sí
Rosaceae	<i>Cotoneaster salicifolius</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Criscia stricta</i>	No	No
Euphorbiaceae	<i>Croton chamaeipytis</i>	No	No
Euphorbiaceae	<i>Croton nitrariifolius</i>	No	No
Lamiaceae	<i>Cunila sp</i>	No	Sí

Familia	Especie	Especie en GenBank	Género en GenBank
Lythraceae	<i>Cuphea carthaginensis</i>	No	Sí
Lythraceae	<i>Cuphea glutinosa</i>	Sí	Sí
Lythraceae	<i>Cuphea racemosa</i>	No	Sí
Orchidaceae	<i>Cyclopogon?</i>	No	No
Apiaceae	<i>Cyclospermum leptophyllum</i>	No	No
Poaceae	<i>Cynodon dactylon</i>	Sí	Sí
Iridaceae	<i>Cypella fucata</i>	No	No
Iridaceae	<i>Cypella osteniana var osteniana</i>	Sí	Sí
Cyperaceae	<i>Cyperus aggregatus</i>	Sí	Sí
Cyperaceae	<i>Cyperus alternifolius</i>	Sí	Sí
Cyperaceae	<i>Cyperus berroi</i>	No	Sí
Cyperaceae	<i>Cyperus eragrostis</i>	Sí	Sí
Cyperaceae	<i>Cyperus haspan</i>	Sí	Sí
Cyperaceae	<i>Cyperus megapotamicus</i>	No	Sí
Cyperaceae	<i>Cyperus meridionalis</i>	No	Sí
Cyperaceae	<i>Cyperus reflexus</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Danthonia cirrata</i>	No	No
Thymelaeaceae	<i>Daphnopsis racemosa</i>	No	No
Apiaceae	<i>Daucus pusillus</i>	No	No
Fabaceae	<i>Desmanthus sp</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Deyeuxia sp</i>	No	No
Convolvulaceae	<i>Dichondra sericea</i>	No	No
Dipsacaceae	<i>Dipsacus fullonum</i>	Sí	Sí
Sapindaceae	<i>Dodonaea viscosa</i>	Sí	Sí
Moraceae	<i>Dorstenia brasiliensis</i>	No	No
Bromeliaceae	<i>Dyckia remotiflora</i>	Sí	Sí
Amaranthaceae	<i>Dyspanhia ambrosioides</i>	No	No
Poaceae	<i>Echinochloa crus-galli</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Eclipta elliptica</i>	No	No
Cyperaceae	<i>Eleocharis bonariensis</i>	No	No
Cyperaceae	<i>Eleocharis flavescens</i>	No	No
Cyperaceae	<i>Eleocharis maculosa</i>	No	No
Cyperaceae	<i>Eleocharis montana</i>	No	No
Poaceae	<i>Eleusine tristachya</i>	Sí	Sí
Equisetaceae	<i>Equisetum giganteum</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Eragrostis expansa</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Eragrostis nesii</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Eragrostis polytricha</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Erechtites hieracifolia</i>	No	No
Asteraceae	<i>Erechtites valerianifolia</i>	No	No
Apiaceae	<i>Eryngium ebracteatum</i>	No	No
Apiaceae	<i>Eryngium eburneum</i>	Sí	Sí
Apiaceae	<i>Eryngium horridum</i>	No	No
Apiaceae	<i>Eryngium megapotamicum</i>	No	No
Apiaceae	<i>Eryngium nudicaule</i>	Sí	Sí
Apiaceae	<i>Eryngium pandaniifolium?</i>	No	Sí
Apiaceae	<i>Eryngium regnellii</i>	No	Sí
Apiaceae	<i>Eryngium sanguisorba</i>	Sí	Sí
Apiaceae	<i>Eryngium serra</i>	No	Sí
Apiaceae	<i>Eryngium sp</i>	No	Sí
Fabaceae	<i>Erythrina crista-galli</i>	No	No
Escalloniaceae	<i>Escallonia bifida</i>	No	No
Asteraceae	<i>Eupatorium brevipetiolatum</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium bunifolium</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium candolleanum</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium commersonii</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium inulifolium</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium macrocephalum</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium sp</i>	?	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium tanacetifolium</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium tweedianum</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium subastatum</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Eupatorium squarulosum</i>	No	Sí
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia sklotschii</i>	No	No
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia stenophylla</i>	No	No

Familia	Especie	Especie en GenBank	Género en GenBank
Poaceae	<i>Eustachys paspaloides ssp caribae</i>	Sí	Sí
Convolvulaceae	<i>Evolvulus sericeus</i>	No	No
Asteraceae	<i>Facelis retusa</i>	Sí	Sí
Cyperaceae	<i>Fimbristylis autumnalis</i>	Sí	Sí
Cactaceae	<i>Frailea pygmaea</i>	No	No
Fabaceae	<i>Galactia gracillima</i>	No	No
Fabaceae	<i>Galactias marginalis</i>	No	No
Rubiaceae	<i>Galianthe centranthoides</i>	No	No
Rubiaceae	<i>Galianthe fastigiata</i>	No	No
Rubiaceae	<i>Galium ericoides</i>	No	No
Rubiaceae	<i>Galium hoja fina (richardianum?)</i>	Sí?	Sí?
Rubiaceae	<i>Galium hypocarpium</i>	No	Sí
Rubiaceae	<i>Galium latoramosum</i>	Sí	Sí
Rubiaceae	<i>Galium noxium</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Gamochoeta platensis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Gamochoeta simplicicaulis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Gamochoeta sp</i>	No	Sí
Geraniaceae	<i>Geranium dissectum</i>	Sí	Sí
Geraniaceae	<i>Geranium purpureum</i>	No	Sí
Verbenaceae	<i>Glandularia peruviana</i>	Sí	Sí
Verbenaceae	<i>Glandularia platensis</i>	No	Sí
Verbenaceae	<i>Glandularia selloi</i>	Sí	Sí
Lamiaceae	<i>glechon marifolia?</i>	No	No
Amaranthaceae	<i>Gomphrena perennis</i>	No	No
Cactaceae	<i>Gymnocalycium sp</i>	Sí	Sí
Orchidaceae	<i>Habenaria montevidensis</i>	No	No
Orchidaceae	<i>Habenaria parviflora</i>	No	No
Amaryllidaceae	<i>Habranthus sp</i>	Sí	Sí
Amaryllidaceae	<i>Habranthus tubispathus</i>	Sí	Sí
Cistaceae	<i>Helianthemum brasiliense</i>	No	No
Boraginaceae	<i>Heliotropum sp</i>	No	No
Iridaceae	<i>Herbertia lahue</i>	Sí	Sí
Iridaceae	<i>Herbertia pulchella</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Holcus lanatus</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Holocheilus brasiliensis</i>	Sí	Sí
Apiaceae	<i>Hydrocotyle modesta</i>	No	No
Apiaceae	<i>Hydrocotyle pusilla</i>	No	No
Acanthaceae	<i>Hygrophyla pubescens (Hygrophila costata)</i>	No	No
Hypericaceae	<i>Hypericum connatum</i>	Sí	Sí
Hypericaceae	<i>Hypericum del tipo mirianthum</i>	No	Sí
Hypericaceae	<i>Hypericum piriai</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Hypochaeris microcephala</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Hypochaeris neopinnatifida</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Hypochaeris radicata</i>	Sí	Sí
Martyniaceae	<i>Ibicella lutea</i>	Sí	Sí
Iridaceae	<i>Iridaceae sp</i>	No	No
Isoetaceae	<i>Isoetes sp</i>	Sí	Sí
Juncaceae	<i>Juncus pallescens (lo más probables) o tb puede ser microcephalus pero este tiene el fruto casi del largo de los tepalos, y en mi muestra son de un tercio como los de pallescens</i>	No	Sí
Juncaceae	<i>Juncus bufonius</i>	Sí	Sí
Juncaceae	<i>Juncus imbricatus</i>	Sí	Sí
Juncaceae	<i>Juncus micranthus</i>	No	Sí
Malvaceae	<i>Krapovickasia flavescens</i>	No	No
Cyperaceae	<i>Kyllinga vaginata</i>	No	No
Asteraceae	<i>Lactuca saligna</i>	No	No
Verbenaceae	<i>Lantana camara</i>	Sí	Sí
Verbenaceae	<i>Lantana montevidensis</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Lathyrus pusillus</i>	No	No
Fabaceae	<i>Lathyrus subulatus</i>	No	No
Poaceae	<i>Leptocoriphium lanatum (verificar)</i>	No	No
Oleaceae	<i>Ligustrum lucidum</i>	Sí	Sí
Anacardiaceae	<i>Lithraea brasiliensis</i>	No	No
Campanulaceae	<i>Lobelia hederacea</i>	Sí	Sí

Familia	Especie	Especie en GenBank	Género en GenBank
Caprifoliaceae	<i>Lonicera japonica</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Lotus subbiflors</i>	No	No
Asteraceae	<i>Lucilia acutifolia</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Lucilia nitens</i>	Sí	Sí
Onagraceae	<i>Ludwigia grandiflora</i>	No	No
Onagraceae	<i>Ludwigia longifolia</i>	No	No
Fabaceae	<i>Lupinus bracteolaris</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Lupinus hoja grande</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Lupinus sp</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Luziola peruviana</i>	Sí	Sí
Apocynaceae	<i>Mandevillea petrea</i>	No	No
Rosaceae	<i>Margiricarpus pinnatus</i>	No	No
Lamiaceae	<i>Marrubium vulgare</i>	Sí	Sí
Celastraceae	<i>Maytenus ilicifolia</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Medicago arabica</i>	No	No
Fabaceae	<i>Medicago lupulina</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Medicago minima</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Melica brasiliana (nos dio aurantiaca pero es sinonimo de brasiliana)</i>	No	No
Poaceae	<i>Melica macra</i>	No	No
Lamiaceae	<i>Mentha aquatica</i>	Sí	Sí
Apocynaceae	<i>Metastelma</i>	No	No
Plantaginaceae	<i>Micranthemum umbrosum</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Microbriza poimorpha</i>	No	No
Asteraceae	<i>Microgyne trifurcata</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Micropsis spatulatha</i>	No	No
Asteraceae	<i>Mikania micrantha</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Mimosa ramulosa</i>	No	No
Myrtaceae	<i>Mirrhinum autropurpureum</i>	No	No
Rubiaceae	<i>Mitracarpus megapotamicus</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Mnesithea selloana</i>	Sí	Sí
Polygalaceae	<i>Monina sp</i>	No	No
Asteraceae	<i>Mutisia coccinea</i>	No	No
Myrtaceae	<i>Myrceugenia glaucescens</i>	Sí	Sí
Myrtaceae	<i>Myrcianthes cisplatensis</i>	Sí	Sí
Haloragaceae	<i>Myriophyllum brasiliensis</i>	No	No
Primulaceae	<i>Myrsine coriacea</i>	No	No
Asteraceae	<i>Neja pinifolia</i>	No	No
Solanaceae	<i>Nicotiana bonariensis</i>	No	No
Amaryllidaceae	<i>Nothoscordum sp</i>	No	No
Asteraceae	<i>Noticastrum diffusum</i>	No	No
Asteraceae	<i>Noticastrum gnaphalioides</i>	No	No
Cactaceae	<i>Notocactus ottonis</i>	No	No
Cactaceae	<i>Notocactus scopa</i>	No	No
Onagraceae	<i>Oenothera indecora</i>	No	Sí
Onagraceae	<i>Oenothera parodiana</i>	Sí	Sí
Onagraceae	<i>Oenothera ravenii</i>	Sí	Sí
Rubiaceae	<i>Oldenlandia salzmännii</i>	No	No
Ophioglossaceae	<i>Ophioglossum crotalophoroides</i>	No	No
Poaceae	<i>Oplismenus hirtellus</i>	No	No
Orchidaceae	<i>Orchidaceae sp</i>	No	No
Oxalidaceae	<i>Oxalis articulata</i>	Sí	Sí
Oxalidaceae	<i>Oxalis brasiliensis (syn: O. macachin)</i>	Sí	Sí
Oxalidaceae	<i>Oxalis eriocarpa</i>	No	Sí
Oxalidaceae	<i>Oxalis floribunda</i>	Sí	Sí
Oxalidaceae	<i>Oxalis perdicaria</i>	Sí	Sí
Oxalidaceae	<i>Oxalis rupestris</i>	No	No
Oxalidaceae	<i>Oxalis sellowiana</i>	No	Sí
Apocynaceae	<i>Oxypetalum tomentosum</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Panicum sabulorum</i>	No	No
Asteraceae	<i>Panphalea heterophylla</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Panphalea maxima</i>	No	Sí
Caryophyllaceae	<i>Paronychia setigera</i>	No	No
Poaceae	<i>Paspalum dilatatum</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Paspalum exhaltatum</i>	No	Sí

Familia	Especie	Especie en GenBank	Género en GenBank
Poaceae	<i>Paspalum notatum</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Paspalum plicatum</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Paspalum pumilum</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Paspalum quadrifarium</i>	Sí	Sí
Passifloraceae	<i>Passiflora caerulea</i>	Sí	Sí
Malvaceae	<i>Pavonia aurigloba</i>	No	No
Malvaceae	<i>Pavonia cymbalaria</i>	No	No
Malvaceae	<i>Pavonia glechomoides</i>	No	No
Amaranthaceae	<i>Pfaffia gnaphaloides</i>	No	Sí
Amaranthaceae	<i>Pfaffia tuberosa</i>	Sí	Sí
Arecaceae	<i>Phoenix canariensis</i>	No	No
Verbenaceae	<i>Phyla canescens</i>	Sí	Sí
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca dioica</i>	No	No
Pinaceae	<i>Pinus pinaster</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Piptochaetium montevidensis</i>	No	No
Poaceae	<i>Piptochaetium stipoides</i>	Sí	Sí
Plantaginaceae	<i>Plantago berroi</i>	No	No
Plantaginaceae	<i>Plantago brasiliensis</i>	No	No
Plantaginaceae	<i>Plantago penantha</i>	No	No
Plantaginaceae	<i>Plantago spp</i>	No	No
Polypodiaceae	<i>Pleopeltis lepidopteris</i>	No	Sí
Polypodiaceae	<i>Pleopeltis pleopeltifolia</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Pluchea sagitalis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Podocoma sp</i>	No	Sí
Fabaceae	<i>Poiretia teraphylla</i>	No	No
Polygalaceae	<i>Polygala australis</i>	No	Sí
Polygalaceae	<i>Polygala linoides</i>	No	Sí
Polygalaceae	<i>Polygala sp (flores violaceas juntas)</i>	No	Sí
Polygonaceae	<i>Polygonum glabrum</i>	No	No
Polygonaceae	<i>Polygonum lapathifolium</i>	No	No
Polygonaceae	<i>Polygonum punctatum</i>	No	No
Asteraceae	<i>Porophyllum sp</i>	No	Sí
Portulacaceae	<i>Portulaca sp</i>	No	Sí
Potamogetonaceae	<i>Potamogeton pusillus</i>	Sí	Sí
Primulaceae	<i>Psamolus subnudicaulis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Pseudonaphalium cheirantifolium</i>	No	No
Asteraceae	<i>Pterocaulon aloperculoides</i>	No	No
Asteraceae	<i>Pterocaulon cordobense</i>	No	No
Asteraceae	<i>Pterocaulon polystachium</i>	No	No
Rosaceae	<i>Pyracantha coccinea</i>	Sí	Sí
Ranunculaceae	<i>Ranunculus flagelliformis</i>	No	No
Cyperaceae	<i>Rhynchospora megapotamica</i>	No	No
Rubiaceae	<i>Richardia humistrata</i>	No	No
Rubiaceae	<i>Richardia stellaris</i>	No	No
Brassicaceae	<i>Roripa nasturtium-aquaticum (Nasturtium officinale)</i>	No	No
Poaceae	<i>Rostraria cristata</i>	Sí	Sí
Rosaceae	<i>Rubus ulmifolius</i>	No	Sí
Polygonaceae	<i>Rumex conglomeratus</i>	Sí	Sí
Polygonaceae	<i>Rumex cuneifolius</i>	No	Sí
Dryopteridaceae	<i>Rumohra adiantiformis</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Rynchosia diversifolia</i>	No	No
Fabaceae	<i>Rynchosia senna</i>	No	No
Lamiaceae	<i>Salvia procurrens</i>	Sí	Sí
Euphorbiaceae	<i>Sapium glandulosum</i>	Sí	Sí
Dipsacaceae	<i>Scabiosa autropurpurea</i>	No	No
Anacardiaceae	<i>Schinus engleri</i>	No	No
Cyperaceae	<i>Schoenoplectus californicus</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Schyzachirium microstachium</i>	No	No
Poaceae	<i>Schyzachirium spicatum</i>	No	No
Plantaginaceae	<i>Scoparia montevidensis</i>	No	No
Lamiaceae	<i>Scutellaria racemosa</i>	No	No
Rhamnaceae	<i>Scutia buxifolia</i>	Sí	Sí
Selaginellaceae	<i>Selaginella sellowii</i>	No	No
Asteraceae	<i>Senecio bonariensis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Senecio brasiliensis</i>	No	No

Familia	Especie	Especie en GenBank	Género en GenBank
Asteraceae	<i>Senecio icoglossoides</i>	No	No
Asteraceae	<i>Senecio magadascariensis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Senecio selloi</i>	No	No
Poaceae	<i>Setaria parviflora</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Setaria vaginata</i>	No	Sí
Malvaceae	<i>Sida rhombifolia</i>	No	No
Malvaceae	<i>Sida spinosa</i>	No	No
Caryophyllaceae	<i>Silene gallica</i>	No	No
Iridaceae	<i>Sisyrinchium palmatum?</i>	No	No
Iridaceae	<i>Sisyrinchium laxum</i>	No	No
Iridaceae	<i>Sisyrinchium scariosum</i>	No	No
Iridaceae	<i>Sisyrinchium vaginatum</i>	No	No
Orchidaceae	<i>Skeptrostachys sp</i>	No	No
Smilacaceae	<i>Smilax campestris</i>	No	No
Solanaceae	<i>Solanum chenopodioides</i>	No	No
Solanaceae	<i>Solanum flagellare</i>	No	No
Solanaceae	<i>Solanum mauritianum? O el otro</i>	No	Sí
Solanaceae	<i>Solanum pseudocapsicum</i>	Sí	Sí
Solanaceae	<i>Solanum sysimbrifolium</i>	No	No
Asteraceae	<i>Solidago chilensis</i>	No	No
Asteraceae	<i>Sommerfeltia spinulosa</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Sonchus asper</i>	Unverified	
Asteraceae	<i>Sonchus oleraceus</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Sporobolus indicus</i>	Sí	Sí
Lamiaceae	<i>Stachys arvensis</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Steinchisma decipiens</i>	No	No
Poaceae	<i>Steinchisma hians</i>	No	No
Asteraceae	<i>Stenachaenium campestre</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Stenachaenium riedelli</i>	No	Sí
Acanthaceae	<i>Stenandrium sp</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Stenotaphrum secundatum</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Stevia multiaristata</i>	No	No
Poaceae	<i>Stipa charruana</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Stipa filiculmis</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Stipa filifolia</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Stipa juncooides</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Stipa megapotamia</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Stipa nessiana</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Stipa nutan var . Quinqueciliata (ahora Nassella quinqueciliata)</i>	No	Sí
Poaceae	<i>Stipa papposa</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Stipa spp</i>	No	Sí
Fabaceae	<i>Stylosanthes montevidensis</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Symphotrichum squamatum</i>	No	No
Marantaceae	<i>Thalia multiflora</i>	No	No
Thelypteridaceae	<i>Thelypteris argentina</i>	No	Sí
Thelypteridaceae	<i>Thelypteris hispidula</i>	No	Sí
Thelypteridaceae	<i>Thelypteris interrupta</i>	No	Sí
Thelypteridaceae	<i>Thelypteris sp</i>	No	Sí
Thypaceae	<i>Thypa sp</i>	No	Sí
Bromeliaceae	<i>Tillandsia aeranthos</i>	Sí	Sí
Poaceae	<i>Trachypogon montufari</i>	No	No
Euphorbiaceae	<i>Tragia geraniifolia</i>	No	No
Asteraceae	<i>Trichocline incana</i>	No	No
Asteraceae	<i>Trixis nobilis</i>	No	No
Passifloraceae	<i>Turnera sidoides</i>	Sí	Sí
Scrophulariaceae	<i>Verbascum virgatum</i>	No	No
Verbenaceae	<i>Verbena bonariensis?</i>	Sí	Sí
Verbenaceae	<i>Verbena intermedia</i>	Sí	Sí
Verbenaceae	<i>Verbena montevidensis</i>	Sí	Sí
Verbenaceae	<i>Verbena rigida</i>	No	Sí
Asteraceae	<i>Vernonia squarrosa</i>	No	No
Plantaginaceae	<i>Veronica arvensis</i>	Sí	Sí
Fabaceae	<i>Vicia graminea</i>	No	No
Fabaceae	<i>Vicia linearifolia</i>	No	No

<b>Familia</b>	<b>Especie</b>	<b>Especie en GenBank</b>	<b>Género en GenBank</b>
Poaceae	<i>Vulpia australis</i>	No	No
Campanulaceae	<i>Wahlenbergia linarioides</i>	No	No
Cactaceae	<i>Wigginsia sp</i>	No	No
Woodsiaceae	<i>Woodsia montevidensis</i>	Sí	Sí
Asteraceae	<i>Xanthium strumarium</i>	No	No
Amaryllidaceae	<i>Zephyranthes americana</i>	No	No
Gentianaceae	<i>Zygostigma australe</i>	No	No
	<i>Schinus molle</i>	Sí	Sí
	<i>Syagrus romanzoffiana</i>	No	No
	<i>Gleditsia</i>	Sí	Sí
	Total encontradas en GenBank	143	219
	No están en GenBank	300	224