UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES.
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA GENÉTICA Y EVOLUCIÓN.

PAPEL DE LA RECOLONIZACIÓN EN EL MANTENIMIENTO DE LAS POBLACIONES DEL ROEDOR COMENSAL *MUS MUSCULUS* EN ESTABLECIMIENTOS AVÍCOLAS DEL PARTIDO DE EXALTACIÓN DE LA CRUZ (PROVINCIA DE BUENOS AIRES).

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTORA DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. ÁREA CIENCIAS BIOLÓGICAS.

VANINA ANDREA LEÓN

DIRECTORA DE TESIS: MARÍA BUSCH.

CONSEJERA DE ESTUDIOS: MARÍA BUSCH.

BUENOS AIRES 2009.

Agradecimientos

A mi directora María Busch, por haberme brindado la oportunidad de trabajar con ella, por haberme iniciado en la investigación, enseñándome desde como instalar una trampa hasta como escribir un trabajo científico. Gracias por haber confiado en mí para realizar este doctorado, por toda la ayuda recibida, y por todas las demás enseñanzas que no necesariamente pertenecen al ámbito académico.

A David Bilenca y a Karina Hodara, por haberme recomendado para realizar este trabajo.

A Santiago Guidobono, Mariana Escolar, Carolina Guerra, Mariana Totino, Soledad Fernández y Jimena Fraschina por haberme acompañado con muchísima predisposición y buena onda a las innumerables e inolvidables campañas realizadas en "Gaynor". Gracias también por haber hecho que todos los momentos en el campo tengan un recuerdo y una anécdota divertida. Gracias además porque sin su ayuda no hubiera podido hacer los muestreos.

A los dueños y encargados de las granjas de Diego Gaynor, La Lata y Puerto Chenaut, por haberme permitido muestrear en ellas y por haberme tratado siempre muy amablemente. Gracias a toda la gente del lugar y especialmente a Carlitos y su familia, que siempre que pudieron me dieron una mano cuando la camioneta se rompía!

A Daniel Nuñez y a la Municipalidad de Exaltación de la Cruz, por permitirnos realizar nuestras investigaciones en la zona.

A María Isabel Remis por haberme aclarado dudas de genética de poblaciones, y además por haberme prestado su libro ("El Hedrick").

A Esteban Hasson, por haber colaborado con el capítulo de genética.

A Marina Chiappero por haberme respondido muchas preguntas acerca del análisis de los geles y por la bibliografía prestada.

A Gerardo Cueto por aclararme dudas acerca de los análisis genéticos.

A Regino Cavia por "ayudarme" con los mapas de la tesis y con demás análisis estadísticos.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y a la Universidad de Buenos Aires por haber financiado el trabajo de investigación.

Nuevamente a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por haberme otorgado la Beca doctoral.

A CONICET por haberme otorgado la beca de Postgrado tipo II.

A todos mis amigos y compañeros del laboratorio 63 y 104, Lorena Pérez Carusi, Emiliano Muchetto, Santiago Guidobono, Soledad Fernandez, Jimena Franchina, Evangelina Aristegui, Mariela Miño, Isabel Gómez Villafañe, Regino Cavia, Gerardo Cueto, Olga Suarez, David Bilenca, Carlos González Fischer, Mariano Codesido y María Busch, gracias por todos los momentos compartidos y por toda la ayuda (que fue mucha!) que siempre me brindaron.

Gracias Jime por ser mi amiga y compañera inseparable del "pasillo" y por haber seguido desde muy cerquita, y por ende haberme "aguantado", en el proceso de la tesis.

Agradecimientos

A Juli, Mati, Marian, Caro, Mariana y Pablo, por ser mis amigos fuera del labo y por compartir más que sólo charlas en el pasillo de la Facu..

A Fabri, gracias por toda tu ayuda incondicional. Gracias por aguantar mis ausencias cuando me iba de campaña o a algún viaje. Gracias por bancarte mi humor en los momentos más complicados y a pesar de eso seguir acompañándome siempre. En resumen…Gracias por el aguante y por estar siempre al lado mío!!

A mis hermanos Walter y Natalia por haber colaborado con mis estudios cuando la situación era un poco complicada. A mi "hermanito" Leandro por aguantar que le use la computadora todo el tiempo. Gracias por esta siempre al lado mío!!

Finalmente quiero agradecer muy especialmente a mis papás, por haberme incentivado a que estudie y trabaje en lo que realmente me gusta, por todo el sacrificio que siempre hicieron y por haberme dado la oportunidad de estudiar aún cuando los momentos no eran tan buenos para hacerlo. Gracias por el apoyo cotidiano y por estar siempre al lado mío!!

RESUMEN *1*

RESUMEN (INGLÉS) *2*

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL *3*

CAPÍTULO II. ÁREA DE ESTUDIO *12*

CAPÍTULO III. ANÁLISIS DE LA CORRELACIÓN ESPACIAL DE LAS ABUNDANCIAS DE *MUS MUSCULUS* Y EL EFECTO DE LA VECINDAD SOBRE LA ABUNDANCIA.

INTRODUCCIÓN *19*

MÉTODOS *22*

RESULTADOS *26*

DISCUSIÓN *29*

CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE *MUS MUSCULUS.*

INTRODUCCIÓN *32*

MÉTODOS

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS *38*

LOCI SELECCIONADOS *40*

EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO *41*

CUANTIFICACIÓN DE ADN GENÓMICO *42*

AMPLIFICACIÓN POR PCR *42*

ANÁLISIS DE LOS DATOS *43*

RESULTADOS *48*

DISCUSIÓN *52*

CAPÍTULO V. MOVIMIENTOS DE *MUS MUSCULUS* EN GRANJAS AVÍCOLAS.

INTRODUCCIÓN *56*

MÉTODOS 61

RESULTADOS *64*

DISCUSIÓN *67*

CAPÍTULO VI. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE CONTRO DE ROEDORES A DIFERENTES ESCALAS ESPACIALES.

INTRODUCCIÓN *70*

MÉTODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL *73*

APLICACIÓN DE CEBOS ANTICOAGULANTES..... *74*

EVALUACIÓN DE LA ABUNDANCIA DE ROEDORES

ESTACIONES DE CONSUMO *75*

ESTACIONES DE CEBO *76*

RESULTADOS *79*

DISCUSIÓN *82*

CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES FINALES..... *86*

BIBLIOGRAFÍA *91*

PAPEL DE LA RECOLONIZACIÓN EN EL MANTENIMIENTO DE LAS POBLACIONES DEL ROEDOR COMENSAL *MUS MUSCULUS* EN ESTABLECIMIENTOS AVÍCOLAS DEL PARTIDO DE EXALTACIÓN DE LA CRUZ (PROVINCIA DE BUENOS AIRES).

El objetivo general de esta tesis fue estudiar la importancia de la recolonización sobre el mantenimiento de las poblaciones de *Mus musculus* en establecimientos avícolas de Buenos Aires. A partir del análisis espacial de la distribución de abundancias entre granjas se observó sólo efectos locales sobre la abundancia, en coincidencia con los registros de escasos movimientos, y la existencia de una estructuración genética entre granjas, e incluso a escala de galpón, y un patrón de aislamiento por distancia, indicando que existe poca dispersión efectiva y que los movimientos de los individuos son escasos y que de ocurrir sólo se darían a cortas distancias. Finalmente, en una experiencia de control, no se encontró una contribución significativa de los alrededores de las granjas sobre la recuperación de la población de roedores en los galpones. Sin embargo, para el control de otras especies de roedores sería necesario el control de los perímetros. En conclusión, el mantenimiento de las poblaciones de *M. musculus* en las granjas estudiadas dependería principalmente de la dinámica local de cada una de ellas, mientras que no sería de gran importancia la contribución de individuos provenientes del exterior de las granjas.

PALABRAS CLAVE: *Mus musculus,* granjas avícolas, recolonización, efectos locales y espaciales, movimientos, control, estructuración genética.

THE EFFECT OF RECOLONIZATION ON THE PERSISTENCE OF THE COMENSAL RODENT *MUS MUSCULUS* IN POULTRY FARMS OF THE EXALTACIÓN DE LA CRUZ DEPARTMENT (PROVINCE OF BUENOS AIRES, ARGENTINA).

The goal of this thesis was to asses the effect of recolonization on the persistence of M. musculus populations in poultry farms of the Buenos Aires Province. A spatial analysis of the distribution of abundance among farms showed a significant effect of local variables, and an absence of an effect of characteristics of surrounding farms. This result agrees with the small range of movements detected by the tracks of animals powered with fluorescent pigments, and with the genetic structuration of the populations, with a differentiation at both farm and sheds (intra farm) scales. This genetic differentiation was stronger at stronger geographical distances. An experiment of control with anticoagulants at two spatial scales also showed that the effect is not increased when including the surroundings of the farm, but the perimeters of the farms probably contribute to the recovery of the populations through the invasion of sylvan rodents. According to our results, M. musculus abundance in poultry farms is mainly determined by their intrinsic characteristics, and not by variables associated to the probability of recolonization from another farms.

KEYS WORDS: *Mus musculus*, poultry farms, recolonization, local and spatial effects, movements, control, genetic structure.

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN GENERAL.

En los últimos años, el rápido incremento de la población humana sumado al cambio tecnológico constante, han constituido una combinación única en la historia del hombre que provocó una ampliación del alcance y de las modificaciones producidas en el medio ambiente (Vitousek et al., 1997; Wolman, 1993). Esto condujo a un aumento en algunos efectos no deseados, como la irrupción de especies plaga, especialmente aquellas capaces de explotar los nuevos hábitats generados por el hombre (Vitousek et al., 1997). Dentro de estas últimas, se encuentran algunas especies de roedores que lograron explotar exitosamente las fuentes de alimento y refugio (Dickman y Doncaster, 1987; Aplin y Singleton, 2003) y en muchos casos superan el umbral de abundancia a partir del cual producen perjuicios, ya sea por pérdidas económicas, como por los riesgos asociados a la transmisión de enfermedades al hombre y a animales domésticos (Begon, 2006), o por afectar a otras especies por exclusión competitiva o por depredación, como el caso de huevos de aves (Donlan et al., 2002; Robertson y Gemmel, 2004).

Entre los daños económicos causados por los roedores se encuentran los daños estructurales en construcciones (Timm, 1994), el consumo o contaminación de alimentos almacenados destinados tanto a los humanos como a los animales domésticos (Valencia et al., 1994; Cowan et al., 2003; Pimentel et al., 2005; Lobos et al., 2005) y pérdidas ocasionadas en diversos campos de cultivos (Brown y Singleton, 1998; Brown y Singleton, 2002; Stenseth et al., 2003; Brown, 2005). Singleton et al. (1999) estimaron que solamente en Asia, los daños en los cultivos de arroz por roedores podrían proveer alimentos a 200 millones de asiáticos por año. Por otra parte, Elias (1988) ha documentado daños directos a cultivos (destrucción del alimento por consumo y contaminación del mismo) e indirectos relacionados con los medios de producción, tales

como daños a equipos e incapacidad de los trabajadores y animales domésticos por enfermedad.

Los roedores son reservorios de numerosos agentes patógenos, para el hombre y para animales domésticos, y pueden causar brotes de enfermedades. Una de las enfermedades que ha provocado gran cantidad de muertes humanas fue la "Peste", donde las ratas tuvieron principal importancia, ya que albergan al vector de esta enfermedad (pulgas). A lo largo de la historia han ocurrido tres grandes pandemias de peste. La primera tuvo lugar entre los siglos VI y IX, causando 40 millones de muertes; la segunda comenzó en 1320 y causó alrededor de 25 millones de muertes sólo en Europa; la tercera comenzó en China en la década de 1860, y luego se extendió a África, Europa y América. En la actualidad, esta enfermedad ocurre principalmente en África y el sudeste Asiático (Drancourt y Raoult, 2002; Collazo y Castro, 1997), mientras que en América es endémica en regiones de Brasil, Bolivia y Ecuador. En Argentina, el primer registro de peste fue en el puerto de Rosario en el año 1899, habiendo algunos otros casos esporádicos durante el siglo XX (Boletín Epidemiológico OPS, 1984).

Otro grupo de enfermedades asociadas a roedores son las llamadas "emergentes", como las causadas por hantavirus, que infectan a una amplia diversidad de roedores y son los agentes causales de la "Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal", que se distribuye principalmente en muchos países de Asia y Europa, y el "Síndrome Pulmonar por hantavirus", con prevalencia en el continente Americano. Otro ejemplo es el de los arenavirus, como el virus que produce la "Coriomeningitis linfocitaria" que tiene una amplia distribución geográfica, comprendiendo América, Europa, Asia, África y Oceanía, continentes en los cuales se encuentra su reservorio, el roedor *M. musculus* (Saavedra et al., 2001; Saavedra et al., 2007). Y por otro lado, los virus que producen

"Fiebre Hemorrágica" en Sudamérica (virus Junín; Machupo, Guanarito, Sabiá) y África (virus Lassa). Los géneros *Mus* y *Rattus*, de amplia distribución mundial, se hallan también involucrados en la epidemiología de otras enfermedades como leptospirosis, salmonelosis, tifus, y triquinosis, entre otras (Pratt et al., 1979).

La condición de plaga generalmente se encuentra asociada a especies que no son nativas de los sitios donde causan problemas, sin embargo, en algunos casos ciertas modificaciones del medio ambiente pueden llevar a cambios en la abundancia y/o distribución de especies nativas, que pueden convertirse en plaga. Por ejemplo, en muchos países de América Latina especies de los géneros *Holochilus*, *Sigmodon* y *Calomys,* producen pérdidas importantes en diversos tipos de cultivo, tales como caña de azúcar, arroz y maíz (Collazo y Castro, 1994). Los roedores del género *Microtus sp* son considerados una de las plagas de mamíferos más importantes de las plantaciones de coníferas y árboles caducifolios en América del Norte (Sullivan et al., 2001), mientras que *Geomys* sp es considerada plaga por alimentarse de las raíces de árboles frutales y de alfalfa (Case y Jasch, 1994). En Europa, la especie *Arvicola terrestris*, durante las fases de alta abundancia poblacional, causa grandes pérdidas en el sector forestal y puede devastar grandes áreas de pastizal (Pelz, 2003) y también ha sido vinculada con una mayor prevalencia de equinococosis alveolar en humanos, enfermedad parasitaria letal (Morilhat et al. 2008). En Asia, *Bandicota* sp, *Mus* sp y *Rattus sp* son consideradas plagas por causar enormes pérdidas económicas en la cosecha de arroz (Singleton et al., 1999; Brown et al., 2005), y en otros cultivos tales como caña de azúcar, frutos secos y sorgo (Tongtavee, 1980).

En el caso particular de Argentina, Quintanilla et al. (1973), Massoia (1984) y Kravetz (1991) citan numerosos casos de especies nativas responsables de daños a cultivos, entre ellas *Akodon azarae*, *Calomys laucha*, *Calomys musculinus*, *Oligoryzomys flavescens*. En un estudio cuantitativo se estimó una merma del 4,6% en la producción de maíz por efecto de *Calomys laucha* (Bilenca y Kravetz, 1995).

Sin embargo, se ha registrado que generalmente las especies que causan más problemas son las que fueron introducidas por el hombre, frecuentemente en forma accidental, como las ratas (*Rattus rattus* y *Rattus norvegicus*) y la laucha doméstica (*Mus musculus*). La falta de controles naturales como enfermedades, competidores y depredadores, alta disponibilidad de alimento y condiciones climáticas óptimas, en los nuevos sitios, les permiten alcanzar altas abundancias.

Estas especies son nativas de Asia y llegaron a América junto con las inmigraciones europeas. Debido a su gran adaptabilidad y a su potencial reproductivo se distribuyen a lo largo de todo el mundo y en una gran variedad de hábitats, abarcando zonas templadas y tropicales (Timm, 1994; Latham y Mason, 2004; Pocock et al., 2005; Witmer y Jojola, 2006). Estas especies son consideradas principalmente comensales por presentar una estrecha asociación con los establecimientos humanos (zonas urbanas y rurales) donde logran alcanzar sus máximas densidades. Sin embargo, también existen poblaciones silvestres alejadas de la presencia humana tanto en campos, como en ambientes naturales y seminaturales, donde usualmente hay pocos competidores o depredadores (Pocock et al., 2005).

En Australia, el roedor introducido *Mus musculus* es considerado una de las plagas más importantes de la agricultura. Desde 1905 hasta 1997 ocurrieron al menos 12 picos en la abundancia de esta especie, que afectaron a la producción de cereales causando

pérdidas económicas de más de 50 millones de dólares (Ramsey y Wilson, 2000; Brown, 2005; Pech et al., 2003). En Nueva Zelanda, las irrupciones de *M. musculus* ocurren cada 5 años aproximadamente y han sido relacionadas con una mayor disponibilidad de semillas en los bosques nativos de *Notophagus* sp (Choquenot y Ruscoe, 2000). En Estados Unidos estimaciones realizadas en granjas avícolas mostraron que existe 1 rata cada 5 aves de corral y que los costos por los daños producidos por los roedores, en zonas tanto rurales como urbanas, alcanzan los 19 millones de dólares anuales (Pimentel et al., 2005).

En Argentina, *M. musculus* y *Rattus* spp alcanzan altas densidades en algunos hábitats rurales particulares como las granjas avícolas, y en hábitats urbanos como en las ciudades de Buenos Aires, Córdoba y Santa Fé, donde no sólo causan pérdidas económicas sino que también representan un riesgo sanitario por estar involucradas en la transmisión de leptospirosis, coriomeningitis linfocitaria y salmonelosis (Seijo, 2001; Castillo et al., 2003; Vanasco et al., 2003; Gómez Villafañe et al., 2004; Provensal et al., 2006; Fernández et al., 2007).

La distribución de las especies introducidas en una nueva área en algunos casos se mantiene restringida a algún hábitat o región particular, mientras que en otros casos logran colonizar una amplia variedad de hábitats y alcanzan una distribución extensa. Esto dependerá tanto de características de la especie como del medio circundante, y a su vez determinará las características de su dinámica. En el primer caso, su presencia en cada uno de los parches favorables dependerá de su dinámica local, y de la posibilidad de recolonización desde otros parches favorables. Esta última a su vez depende de las distancias entre los parches, de la capacidad de movimiento de las especies y de las características del medio circundante. En el caso de especies plaga, que son sometidas a

control por el hombre, la recolonización sería un factor determinante para el mantenimiento de las poblaciones en los parches favorables y en consecuencia, los movimientos de los individuos entre distintas unidades de hábitats definirán las unidades de control y manejo. Si hay movimientos de individuos entre las diferentes unidades, para que las medidas de control sean exitosas deberían extenderse en el espacio teniendo en cuenta esos movimientos, mientras que si no hubiera movilidad los controles podrían aplicarse a los parches individuales, sin contemplar el ambiente entre ellos (Abdelkrim et al., 2005).

En el caso de los ecosistemas agrarios de la pampa argentina, que son ambientes heterogéneos donde la matriz original de pastizales quedó particionada en parcelas dedicadas al cultivo, a la ganadería y a actividades avícolas, los roedores introducidos presentan una distribución discontinua en el espacio, presentando abundancias altas en zonas urbanizadas y en granjas avícolas y abundancias bajas en los campos de cultivo y sus bordes, y en otras zonas poco perturbadas, donde dominan las especies de roedores nativas.

En las granjas avícolas de la zona de estudio, los roedores comensales *Mus musculus*, *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus* son los más abundantes, encontrándoselos asociados principalmente a los galpones de cría. Las especies silvestres *Akodon azarae, Calomys laucha, Calomys musculinus, Oligoryzomys flavescens y Oxymycterus rufus*, son menos abundantes que las especies comensales en las granjas y se las encuentra principalmente asociadas a las zonas menos perturbadas como los alambrados perimetrales de granjas y bordes de campos de cultivo, donde hay abundante cobertura vegetal (Mills et al., 1991; Busch y Kravetz, 1992; Bilenca et al., 1995; Miño et al., 2007).

En estos ecosistemas agrarios la dinámica poblacional de los roedores comensales en cada uno de los hábitat ocupados, puede estar determinada principalmente por factores locales como la disponibilidad de alimento, refugio, y medidas de control impulsadas por el hombre; o puede estar determinada a una mayor escala, dependiendo de la interconexión con las otras unidades o con el ambiente circundante. En caso de una amplia conexión entre granjas, habría una única población conectada por movimientos de individuos, mientras que si existieran movimientos restringidos, y la dinámica entre parches fuera asincrónica, la persistencia se debería a una dinámica de metapoblaciones (Hanski y Gilpin, 1997; Ritche, 1997).

Entre las evidencias de la influencia de la recolonización desde los alrededores, Gómez Villafañe et al. (2001) encontraron una asociación positiva entre el porcentaje de cobertura vegetal y la longitud del perímetro de la granja con el grado de infestación por roedores, y Miño et al. (2007) observaron una mayor abundancia de especies silvestres en los galpones de las granjas situados a corta distancia del perímetro. Por otro lado, un buen estado de mantenimiento de los galpones de cría estuvo asociado a una menor abundancia de roedores (Gómez Villafañe et al., 2001). Sin embargo, no se ha realizado hasta el momento un estudio en que se evalúen evidencias más directas de la existencia de movimientos entre granjas.

En el caso que la abundancia de roedores en las granjas dependa de su interconexión, esperamos que haya una relación entre las abundancias de las granjas que están situados próximas entre sí, así como que la abundancia en una granja dependa de la cantidad de granjas ubicadas a corta distancia. Por otro lado, la abundancia de los roedores en una granja también dependería de las condiciones locales. Este análisis se desarrolla en el "Capítulo III".

A su vez, el grado de conexión entre las distintas unidades, que depende del movimiento de individuos entre ellas, va a estar reflejado en la diferenciación genética de sus poblaciones. Si las distintas granjas funcionan en forma independiente, esperamos que haya diferencias genéticas entre las poblaciones o subpoblaciones que las habitan. Por otro lado, si existe interconexión entre las granjas, pero depende de los movimientos exitosos entre ellas, se espera que las diferencias genéticas dependan de la distancia. En el "Capítulo IV" se analizan las diferencias genéticas existentes entre grupos de individuos que ocupan granjas separadas por distintas distancias geográficas.

Por otro lado, una evidencia directa de la existencia de movimientos se puede obtener mediante el seguimiento de individuos marcados. En el "Capítulo V" se describe un estudio de movimientos realizado mediante el marcado de individuos con polvos fluorescentes.

En el "Capítulo VI" se pretende evaluar el efecto del control de los alrededores sobre la abundancia de roedores, ya que la recolonización puede provenir tanto de sitios distantes (otras granjas) como de los hábitats circundantes. Para tal fin se realizó una experiencia de control con cebos anticoagulantes a dos escalas.

Por último en el "Capítulo VII" se efectúa una integración y discusión de los distintos resultados obtenidos y se plantean conclusiones generales.

CAPÍTULO II.

ÁREA DE ESTUDIO.

Esta tesis se llevó a cabo en granjas avícolas localizadas en el Partido de Exaltación de la Cruz, Provincia de Buenos Aires (34º S, 59º E) (Figura 1). El área está situada en la subregión Pampa Ondulada caracterizada por clima templado, con una temperatura media anual de 16º C y una precipitación anual de 1000 mm.

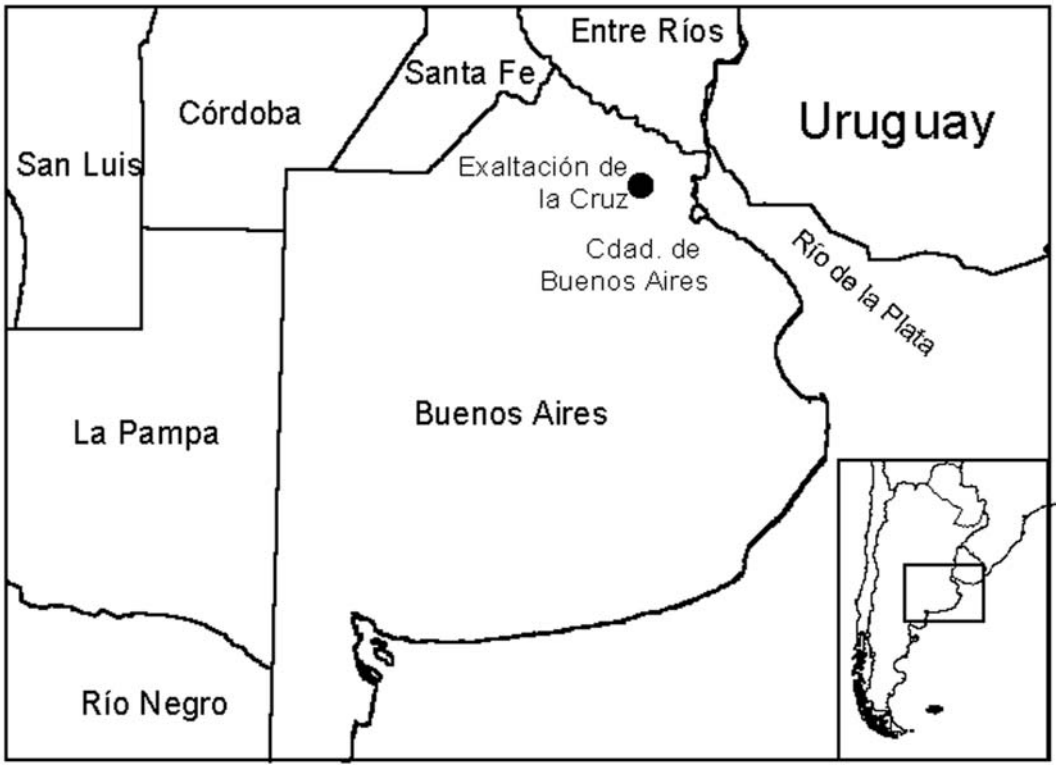

Figura 1. Localización del Partido de Exaltación de la Cruz en la Provincia de Buenos Aires.

El ecosistema natural comprende pastizales, esto es, un sistema de constitución herbácea con neto predominio de gramíneas (Poaceae) y especies graminiformes y con pocas dicotiledóneas. Se encontraron alrededor de 1000 especies de plantas vasculares, de diverso origen, de las cuales más de 500 corresponden a gramíneas pertenecientes a géneros muy diversos como *Stipa, Piptochaetium* o *Paspalum* (Bilenca y Miñarro, 2004). Los pastizales originales se vieron modificados por la introducción de árboles y un intenso desempeño de actividades agrícola-ganaderas. En la actualidad las áreas de

vegetación natural son muy escasas y por lo general se hallan ubicadas en posiciones cóncavas o planas asociadas a los fondos fluviales halomórficos o inundables con escaso valor agrícola, o están ubicadas en bordes de caminos y de cultivos y terraplenes de ferrocarril (Mills et al., 1991; Busch y Kravetz, 1992; Bonaventura y Cagnoni, 1995).

La fauna del área de estudio incluye: *Didelphys albiventris* (comadreja overa), *Lutreolina crassicaudata* (comadreja colorada), *Lasiurus cinereus villosissimus* (murciélagos blanquizcos) *Taradira brasiliensis* (murciélago cola de ratón), *Chaetophractus villosus* (peludos), *Dasypus hybridus* (mulitas), *Lepus europeaus* (liebre europea), *Tupinambis teguixin* (lagarto overo), *Asio flammeus, Tyto alba, Athene cunicularia, Bubo virginianus* (lechuzas), *Polyborus plancus* (carancho), *Milvago chimango* (chimango), y passeriformes en general (Crespo, 1966; Bellocq, 1988).

El reemplazo de los pastizales originales trajo aparejado un profundo desequilibrio en la estructura trófica de la comunidad de mamíferos que favoreció el aumento de la abundancia de roedores y la disminución de los depredadores de mediano tamaño (zorros, gatos, zorrinos, hurones), y modificaciones sustanciales en la abundancia relativa de las especies de micromamíferos. En la región actualmente se cultivan principalmente soja, trigo y maíz. Se cría ganado vacuno, equino, caprino y porcino y aves en forma intensiva. Esta última actividad comenzó aproximadamente en 1980 y mostró un rápido incremento, alcanzando una cantidad mayor a 130 granjas avícolas en la zona de estudio y sus alrededores (Miño, 2003).

En la zona de estudio las granjas avícolas se encuentran inmersas en una matriz de campos de cultivos y pasturas, por este motivo y debido a que las especies comensales *M. musculus* y *Rattus* sp. son las dominantes en estos establecimientos y escasas en los

ambientes menos perturbados, sus poblaciones se encontrarían relativamente aisladas. Se ha demostrado que la presencia de las especies comensales en las granjas es casi permanente a lo largo del año, a pesar de los controles tanto químicos (aplicación de venenos anticoagulantes) como de manejo ambiental (mantenimiento de cobertura vegetal baja, eliminación de residuos, etc) que son realizados en las granjas (Gómez Villafañe, 2003; León et al., 2007).

Debido a que *M. musculus* se encuentra casi en la totalidad de las granjas avícolas de la zona de estudio, donde causa perjuicios económicos, y es la especie de roedor más abundante, esta tesis se centrará principalmente en esta especie**.**

Las granjas avícolas abarcan un área entre 2 y 4 hectáreas donde se ubican los galpones de cría de aves en cantidad variable según la granja, los galpones están separados por áreas ocupadas por caminos para el tránsito de vehículos y espacios cubiertos de vegetación, que en algunos casos se mantiene corta, pero que en otros está descuidada. Las granjas están rodeadas de alambrados perimetrales que las separan de los campos aledaños. En el predio de la granja también se encuentran viviendas, otros tipos de galpones, etc (Foto 1 a, b y c).

Las granjas reciben los pollos de empresas que se encargan del comercio mayorista. Los pollos de aproximadamente 5 días de edad son ingresados a las granjas y ubicados en galpones. Los galpones son rectangulares, de perímetro y superficie variables. El piso es de tierra y está cubierto por una cáscara de girasol o arroz (*cama*) que aísla a los pollos de la humedad y del producto de sus excretas. Las paredes de ladrillos o chapa, son de baja altura (50 cm aproximadamente) y se continúan con un entramado de alambre que llega hasta el techo. Este último es de chapa galvanizada a dos aguas y puede constar o no de un cielorraso de telgopor como aislante de la temperatura. En el

interior de los galpones se encuentran las tolvas con alimento balanceado, los bebederos, y un sistema de riego que permite mojar a las aves y mantenerlas frescas cuando la temperatura ambiente es elevada (Gómez Villafañe, 2003).

Durante el período de crianza, se proporciona agua, alimento y temperatura adecuada a las aves. Los pollos son retirados a los 45-50 días, cuando alcanzan un tamaño adecuado para su consumo, en camiones de la misma empresa que los proveyó, se deja de brindar alimento y agua, y el piso o *cama* es retirado. En este período de descanso, que dura entre 15 y 20 días, se preparan los galpones para un nuevo ingreso de pollos. Las granjas son visitadas semanalmente por un supervisor, perteneciente a la empresa proveedora, para controlar el estado de los pollos (Gómez Villafañe, 2003). Son los propietarios de las granjas quienes generalmente se encargan de la aplicación de rodenticidas, tanto en el período de cría de las aves como en el de descanso, por lo que se observa una gran variabilidad en los momentos y en la duración de aplicación de este control, como así también en las marcas y por lo tanto en las drogas utilizadas para controlar a los roedores. .

CAPÍTULO III.

ANÁLISIS DE LA CORRELACIÓN ESPACIAL DE LAS ABUNDANCIAS DE *M. MUSCULUS* Y EL EFECTO DE LA VECINDAD SOBRE LA ABUNDANCIA.

Como se comentó en el Capítulo I, en los agroecosistemas de la pampa central la presencia de *M. musculus* es ocasional en los campos de cultivo y sus bordes (Busch et al., 2005), a diferencia de lo que ocurre en los agroecosistemas de Australia y Nueva Zelanda, donde puede alcanzar niveles de plaga (Jacob et al., 2003; Pocock et al., 2005). Esta diferencia fue atribuida a la presencia en la pampa de varias especies de roedores nativos, especialmente de *Akodon azarae*, la especie dominante en los bordes enmalezados de los campos de cultivo y de las granjas (Miño et al., 2001) y que sería competitivamente superior a *M. musculus* (Busch et al., 2005). De esta manera, las granjas avícolas representarían para *M. musculus,* islas de hábitats favorables inmersas en una matriz de campos de cultivo menos favorables, debido a la presencia de otras especies de roedores competitivamente superiores.

A su vez, dentro de las granjas los hábitats favorables representados por los galpones de cría se encuentran distribuidos en parches distanciados por unos pocos metros. En los galpones de cría hay oferta permanente de alimento y agua, condiciones óptimas de temperatura y humedad y generalmente a lo largo de sus paredes existe un zócalo de tierra que favorece la construcción de cuevas. Cuando la parte inferior de la pared es de chapa, las uniones entre éstas favorecen la entrada y salida de roedores.

El mantenimiento de la granja y los galpones, así como el grado de aplicación de medidas de control químicas son muy variables entre granjas. En algunas se mantiene permanentemente la cobertura vegetal baja, tanto entre galpones como en los perímetros, no se acumula materiales como basura, leña, o maquinaria en desuso, y se mantienen los galpones en buenas condiciones. Otras granjas están muy enmalezadas, muestran acumulación de basura y los galpones están deteriorados (Gómez Villafañe et al., 2001; Gómez Villafañe, 2003).

En cuanto a los factores que determinan la presencia y/o abundancia de roedores en las granjas, estos podrían ser características propias de las granjas como la cantidad de galpones de cría (relacionado con mayor oferta de alimento), su estado de mantenimiento (estado del cielorraso, del entramado de alambre, las paredes y aberturas), la presencia de áreas cubiertas por vegetación y la aplicación de controles químicos, o factores que afecten la probabilidad de recolonización desde sitios vecinos o desde otras granjas (French et al., 1968; Stikel, 1979; Rowe, 1987; Brown y Tuan, 2005).

En las granjas del área de estudio, Gómez Villafañe et al. (2001) observaron que las granjas con galpones en peor estado presentaban una mayor infestación por roedores que las granjas en buen estado de mantenimiento. Por otro lado, los mismos autores observaron una asociación positiva entre el grado de enmalezamiento de los perímetros de las granjas y el grado de infestación por roedores, y también se observó que los galpones cercanos al perímetro tenían mayor abundancia de roedores que los ubicados en la parte interna de la granja (Gómez Villafañe et al., 2001; Miño et al., 2007) sugiriendo que la probabilidad de recolonización desde el perímetro favorecía la infestación de la granja.

Los determinantes de las abundancias de *M. musculus* no varían en forma estacional (Miño et al., 2007), sino que dependen del manejo individual de la granja, como su mantenimiento y la aplicación de controles químicos, por lo que su dinámica poblacional sería asincrónica en el área de estudio, y podría generar una dinámica de metapoblaciones en la que la persistencia de las poblaciones locales dependa de la recolonización desde otras granjas, como propone Gómez Villafañe (2003) para poblaciones de *R. rattus* en granjas avícolas de la misma zona de estudio.

De acuerdo a los antecedentes presentados, la persistencia de las poblaciones de *M. musculus* podría deberse a los *efectos locales*: características internas de las granjas, o debido a *efectos espaciales*: dados por las características de la vecindad de las granjas y que permiten la inmigración de individuos provenientes desde granjas cercanas o zonas contiguas a las granjas (Pocock et al., 2004; Pocock et al., 2005).

El objetivo del presente capítulo es establecer la relación entre la abundancia de *M. musculus* con las características propias de las granjas (variables internas – efectos locales), y con las características de las granjas en relación a su ubicación respecto a otras granjas (variables externas – efectos espaciales).

De acuerdo a los antecedentes presentados esperamos que la abundancia de *M. musculus* en una granja **1-** muestre una relación inversa con la distancia entre granjas, **2-** muestre una relación positiva con el número de granjas vecinas, **3-** tenga una relación negativa con el grado de mantenimiento de los galpones, **4-** muestre una relación positiva con el número de galpones presentes en la granja. Por otro lado, esperamos que **5-** haya una correlación entre las diferencias en abundancia y las distancias geográficas entre granjas.

Esta parte del estudio se realizó en 28 granjas avícolas del Partido de Exaltación de la Cruz, distribuidas en un área de 190 km^2 (Figura 2). Como puede observarse, las granjas no están distribuidas uniformemente en el espacio, sino que se encuentran formando grupos. Las granjas 2, 3, 4, 5, 6 y 8 se encuentran dentro de una zona relativamente urbanizada correspondiente a Diego Gaynor (Figura 2). Las granjas 30, 31 y 32 son las más cercanas al casco urbano de Capilla del Señor (Figura 2), la cual es una zona de mayor tamaño que la mencionada anteriormente y con mayor grado de urbanización (5725 habitantes).

Las características internas de las granjas consideradas en el análisis y seleccionadas a partir de resultados previos obtenidos por Gómez Villafañe et al. (2001), fueron: número de galpones (muestreados y no muestreados), y estado de mantenimiento, medido con una escala cualitativa basada en la presencia o no de acumulaciones de basura, leña, maquinaria en desuso y el mantenimiento del césped, tanto alrededor de los galpones como en el predio en general (0=malo, 1=regular, 2=bueno y 3=muy bueno).

Las granjas fueron ubicadas geográficamente mediante un GPS y el programa GPS Utility versión 4.20.4 (Murphy, 2005) (Figura 2), y se calculó la distancia entre ellas utilizando el programa OziExplorer versión 3.85.6.2a (Newman y Newman, 1999).

Las características externas de las granjas consideradas fueron: cantidad de granjas presentes en un radio de 500 m (en base al rango de movimientos de *M. musculus*), la distancia a la granja más cercana, y la distancia promedio de las granjas vecinas situadas hasta una distancia de 10 km (esta distancia fue determinada de manera de incluir al menos una granja vecina a la granja focal). Para el cálculo de estas variables se tuvieron en cuenta todas las granjas hayan sido o no muestreadas.

Figura 2. Localización geográfica de las granjas del área de estudio (granjas muestreadas, 9, 10, 11,12, 13, 14 y 28 no fueron muestreadas).

Se determinó la abundancia de roedores en 28 granjas avícolas (Figura 2) en primavera (12 granjas) y verano (16 granjas), mediante la instalación de 1082 trampas de captura viva tipo Sherman. Los muestreos fueron realizados en diciembre de 2004, enero, septiembre, octubre y diciembre de 2005. En cada granja se muestrearon 100 m del perímetro y un máximo de tres galpones seleccionados al azar. Las trampas en los perímetros estuvieron espaciadas cada 10 metros, mientras que para cubrir todos los laterales de los galpones y de acuerdo a la disponibilidad de trampas, en estos ambientes se espaciaron cada 20 metros. Cada granja se muestreó una sola vez y en cada muestreo las trampas fueron revisadas todas las mañanas durante tres días consecutivos. Para cada individuo capturado se determinó la especie, longitud, peso, sexo, estado reproductivo, fecha y lugar de la captura. La abundancia de roedores en cada granja se estimó utilizando un índice de densidad relativo al esfuerzo de captura, calculado de la siguiente manera:

*IDR = (número de individuos capturados/número trampas x noche) * 100*

Para detectar cual o cuáles de las variables internas y externas se relacionaban a la abundancia se realizaron regresiones con aleatorización mediante el programa RT version 2.1 (Manly, 1997). Se realizó una regresión múltiple incluyendo todas las variables a la vez.

Para caracterizar grupos de granjas en base a las diferencias de IDR y a las distancias geográficas se realizaron análisis de agrupamiento de Cluster, mediante el programa Statistica versión 5.5. Para evaluar la existencia de autocorrelación espacial de la abundancia de roedores se realizó un test de Mantel mediante el programa Pop tools version 2.6.6 (Hood, 2005). Las matrices utilizadas fueron la de diferencias de IDR, y la

de inversas de las distancias geográficas entre granjas, en este análisis se analizaron por separado los datos de primavera y verano.

Se capturó un total de 148 individuos pertenecientes a la especie *M. musculus* (141 individuos se capturaron en los galpones de cría, y sólo siete en los perímetros) y 30 individuos de *A. azarae*, de los cuáles sólo nueve fueron capturados en los galpones. El IDR de *M. musculus* de las granjas varió entre cero y 0,49. El número máximo de individuos de *M. musculus* por granja fue de 45 (equivalente a 500 individuos por hectárea), mientras que la densidad promedio fue de 17,3 individuos/ha, considerando exclusivamente el área de los galpones (nº individuos capturados / área promedio galpón * nº galpones)

El número de galpones por granja varió entre uno y 10, siendo tres la cantidad más frecuente. De las 28 granjas muestreadas, a seis se les asignó el estado malo, a seis regular, a 10 estado bueno y a seis estado muy bueno.

La mayor distancia entre granjas fue de 17,7 km y la menor de 0,1 km, el número de granjas en un radio menor a 500 m varió entre cero y dos, y la distancia promedio de las granjas situadas a una distancia menor de 10 km varió entre 0,36 y 9 km.

La única variable que tuvo un efecto significativo sobre la abundancia de *M. musculus* fue el estado de la granja (aquellas granjas con peor estado de mantenimiento presentaron mayor IDR), el resto de las variables consideradas no fueron significativas (Tabla 1).

Variables internas y externas	Coeficiente regresión (R)	F	*p*
Estado Granja	-0,036	4,39	0,019 *
Nº galpones	0,0003	0	0,9
Distancia Promedio	-0,013	1,08	0,23
Nº granjas en radio < 500 m	-0,017	0,46	0,5
Distancia a granja más cercana	0,006	0,03	0,8

Tabla 1. Resultado de la regresión múltiple entre el IDR de *M. musculus* y las variables internas y externas. Los resultados significativos están indicados con asterisco (*).

No se observó una autocorrelación espacial de la abundancia de *M. musculus* en las granjas estudiadas en ninguna de las estaciones estudiadas (Test de Mantel, $R_{primavera} = -0,13; p= 0,4; R_{verano}= -0,003; p = 0,168$).

Coincidentemente con el resultado del Test de Mantel, no se observa que granjas cercanas presenten abundancias similares, es decir, el agrupamiento de granjas de acuerdo a la distancia geográfica entre ellas no concuerda con el agrupamiento obtenido para los IDRs de cada granja (Figura 3). Un ejemplo lo forman las granjas 30 y 31 que como puede observarse en las figuras 2 y 3, se encuentran muy cercanas (57 m) pero difieren sustancialmente en sus abundancias. Las granjas 1, 21 y 31 son las que presentaron mayores abundancias, mientras que el resto presentó abundancias relativamente similares, independientemente de las distancias geográficas que las separan (Figura 3)

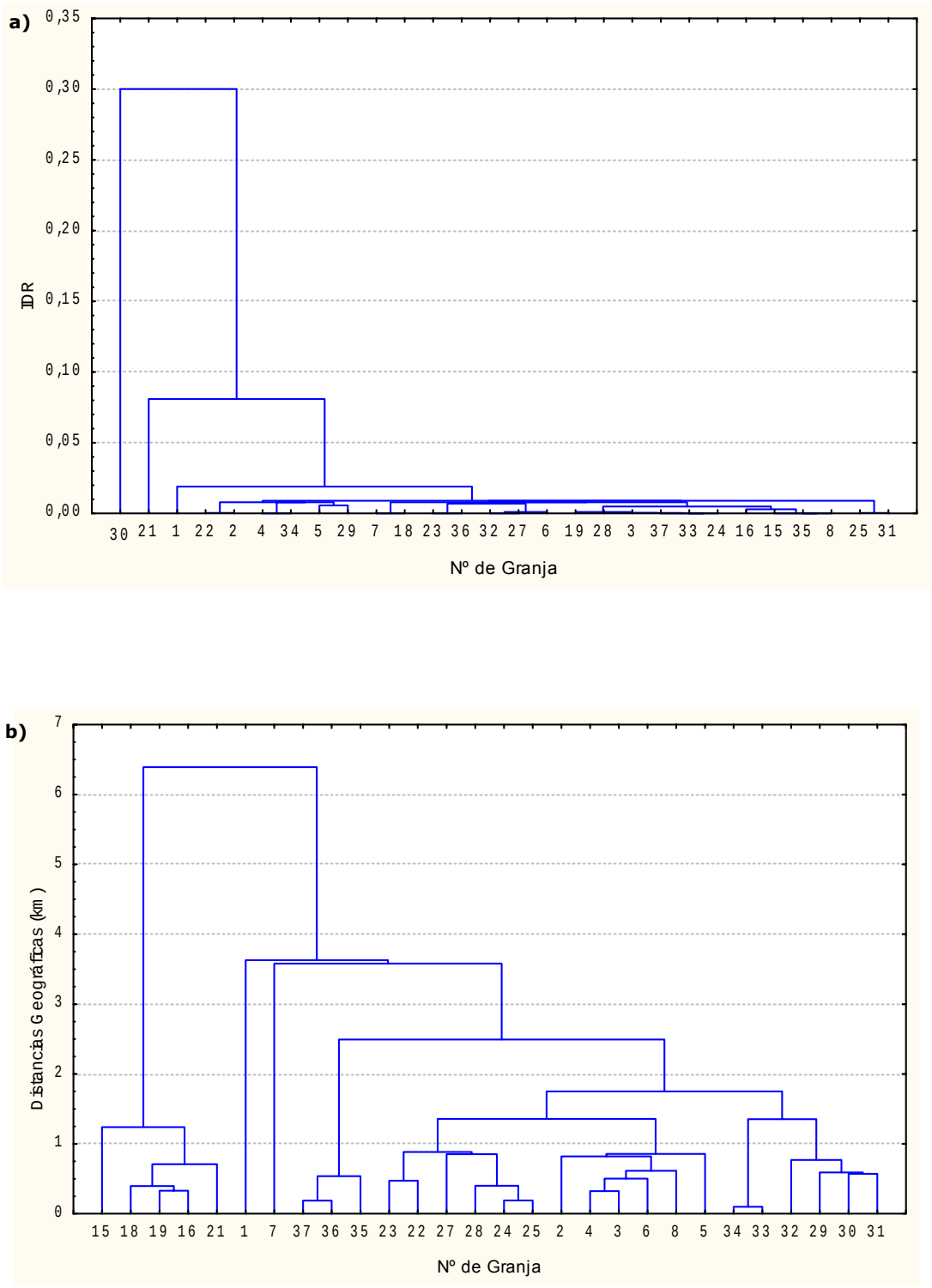

Figura 3. **a)** Agrupamientos obtenidos del análisis de cluster para las diferencias de IDR entre granjas; **b)** Agrupamientos obtenidos del análisis de cluster para las distancias geográficas entre granjas muestreadas.

De acuerdo a lo esperado, la abundancia de *M. musculus* estuvo relacionada con las características internas de las granjas. Sin embargo, no mostró relación con las variables relacionadas con la probabilidad de recolonización desde otras granjas. La ausencia de una autocorrelación espacial de la abundancia y la ausencia de efectos significativos de las variables relacionadas con la probabilidad de recolonización, sugerirían que para el mantenimiento de las poblaciones de *M. musculus* no sería determinante la recolonización a través de desplazamientos de los individuos entre las granjas estudiadas.

Este hecho confirmaría que las granjas avícolas son como islas de hábitat favorables inmersas en un ambiente donde *M. musculus* es escaso y donde sufre la competencia con especies silvestres. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Miñarro (2002), quién si bien observó que controlando la cobertura vegetal baja en los límites de la granja provocaba una disminución de la abundancia de roedores, esto se debía principalmente al efecto sobre *A. azarae* y no sobre *M. musculus*, mientras que esta última sí era afectada por la aplicación de rodenticida en los galpones de cría. Por otro lado, Miño (2003) encontró que granjas con galpones en contacto con bordes de campos de cultivo presentaron mayor proporción de especies silvestres que granjas con galpones alejados del borde, pero no hubo diferencias entre estos grupos de granjas en cuanto a *M. musculus*.

Mus musculus es una especie territorial, y en condiciones de baja densidad los individuos tienden a permanecer en sus territorios, pero cuando la densidad aumenta, los individuos subordinados son forzados a dispersarse para poder acceder a su propio territorio. La densidad promedio en las granjas estudiadas fue baja, y probablemente no llegó a los niveles en los que los individuos subordinados se ven obligados a emigrar

(Petras, 1967; Anderson, 1970; Macintosh, 1981), y por lo tanto las poblaciones de las distintas granjas tendrían una dinámica independiente, determinada por sus características internas. A su vez, la competencia interespecífica en los alrededores de las granjas tendría mayor efecto que la intraespecífica dentro de estas, debido a los controles efectuados permanentemente que mantienen la abundancia de roedores baja. La permanente remoción de individuos daría oportunidad a los individuos más jóvenes o subordinados de ocupar territorios vacantes, sin necesidad de dispersarse.

En resumen, en este capítulo se aportan evidencias de que la abundancia de *M. musculus* en las granjas avícolas está determinada principalmente por sus características internas y no por variables relacionadas con la probabilidad de recolonización desde otras granjas, aunque no se puede descartar el transporte pasivo por el hombre junto con los alimentos u otros materiales que ingresan a la granja.

CAPÍTULO IV.

ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES DE *MUS MUSCULUS*.

La magnitud y distribución de la variación genética tanto dentro como entre poblaciones determina su estructura genética, que está a su vez determinada por la historia evolutiva y es consecuencia de las interacciones entre mutación, deriva genética, flujo génico, patrones de reproducción y selección, como así también de factores históricos a los cuales las poblaciones estuvieron sometidas. En consecuencia, la estructura genética de las poblaciones refleja la efectividad del movimiento de los individuos o de sus genes y nos permite saber si están efectivamente conectadas con las poblaciones vecinas o si son grupos aislados (Parker et al., 1998). El flujo génico es sinónimo de dispersión efectiva, es decir, para que ocurra flujo génico, no sólo debe haber movimientos de individuos entre las poblaciones, sino que también, estos deben reproducirse en la nueva población (Hedrick, 1983). Cuando el flujo génico entre poblaciones es bajo, estas se pueden diferenciar genéticamente, produciéndose así una estructuración genética (Britton-Davidan, 1990).

Por lo tanto, la utilización de marcadores genéticos es una técnica indirecta para obtener evidencias de los movimientos de individuos entre poblaciones. Si los grupos difieren sustancialmente en las frecuencias génicas, esto indica que el flujo génico fue bajo durante las últimas generaciones, mientras que frecuencias genéticas similares indican una historia reciente en común o migración efectiva frecuente.

Algunos análisis genéticos realizados anteriormente en hábitats comensales para *M. musculus*, han encontrado una alta estructuración poblacional. Por ejemplo, Anderson (1964) encontró considerable diferenciación genética entre galpones vecinos de una misma granja utilizando el alelo T (este alelo determina el largo de la cola en los ratones y es letal cuando se encuentra en homocigosis), demostrando ausencia de movimientos libres entre

dichos galpones. Asimismo, Singleton y Hay (1983) han encontrado flujo génico limitado entre "grupos reproductivos", o demes, definidos por interacciones territoriales (Reimer y Petras, 1967; Anderson, 1970; Berry, 1986; Ryan et al., 1993).

Coincidiendo con estos resultados genéticos, Pocock et al. (2005) estimaron que la tasa de dispersión en ambientes comensales estables es baja e implica movimientos de unos pocos metros entre capturas, y sólo una pequeña proporción de animales se mueven más de 25 m.

Sin embargo, otros estudios comportamentales realizados revelaron que puede haber dispersión y reproducción de los dispersantes, tanto a distancias pequeñas, como entre distintos galpones localizados en una misma granja, entre granjas vecinas, o a mayores distancias, extendiéndose hasta un área de 100 ha (Berry y Jakobson, 1974; Myers, 1974).

Datos genéticos también confirman que puede existir dispersión efectiva entre diferentes galpones de una misma granja. Baker (1981) introdujo en una granja avícola individuos de *M. musculus* portadores de un alelo anteriormente ausente, el cual se expandió en la población total al cabo de pocas generaciones, confirmando la existencia de dispersión efectiva dentro de esa granja. Este resultado concuerda con lo hallado por Dallas et al. (1998) quienes no encontraron déficit de heterocigotas en poblaciones comensales utilizando marcadores microsatélites. Si hubiese existido estructuración en esas poblaciones, entonces se hubiese observado un exceso de individuos heterocigotas y un déficit de homocigotas, respecto a lo esperado por el equilibrio de Hardy - Weinberg, este efecto es denominado como el Principio de Wahlund (Hedrik, 1983).

La tasa de dispersión en *M. musculus* probablemente sea denso dependiente, ya que Lidicker (1976) encontró movimientos desde un área con alta densidad hacia otra de menor

densidad, pero no hubo movimientos en la dirección opuesta. Es posible que en condiciones de alta densidad, los individuos subordinados se vean forzados a dispersarse hacia zonas menos pobladas (Petras, 1967; Anderson, 1970; Mackintosh, 1981; Ryan et al., 1993; Pocock et al., 2005) y por lo tanto contribuyan a conectar distintas poblaciones cercanas que en condiciones de baja densidad se encuentran aisladas.

Como la tasa de dispersión entre poblaciones está limitada por el rango de movimientos de la especie, los niveles de flujo génico tienden a disminuir con el incremento de las distancias geográficas, lo cual a su vez resulta en un incremento de la diferenciación genética entre las poblaciones ubicadas a mayores distancias respecto a poblaciones cercanas. Este proceso fue denominado *Aislamiento por distancia* por Wright (1943). Estudios realizados por Dallas et al. (1995) en poblaciones comensales de *M. musculus* han demostrado la existencia de un aislamiento por distancia débil, sugiriendo que ocurre flujo génico sólo entre sitios vecinos.

A nivel regional y a diferencia de lo que ocurre a nivel local, los resultados existentes indican que la dispersión efectiva de *M. musculus* es insuficiente para homogeneizar las frecuencias genéticas. Pocock et al. (2005) plantean que a nivel regional, los hábitats disponibles para *M. musculus* se encuentran distribuidos en *parches*, inmersos en una matriz de hábitats menos favorables, donde sólo ocasionalmente ocurren movimientos entre ellos, seguidos de reproducción exitosa. Sin embargo, la dispersión a mayor escala puede ocurrir de forma pasiva, donde los individuos se transportan a nuevas áreas junto con el hombre y sus movimientos.

Los patrones de variación genética en poblaciones de *Mus musculus* han sido analizados utilizando diferentes marcadores moleculares. En un principio los estudios involucraron aloenzimas y alelos T (Dunn y Suckling, 1956) pero en la actualidad son usados con mayor frecuencia los marcadores microsatélites (Dallas et al., 1998; Hon-Tsen Yu y Yu-Huei Peng, 2002; Panithanarak et al., 2004) y el ADN mitocondrial (Ryan et al., 2000).

Los loci microsatélites o secuencias simples consisten en repeticiones en tándem de un motivo compuesto de dos a seis pares de bases, tales como $(TG)_n$ o $(AAT)_n$, flanqueadas por regiones conservadas no repetitivas de copia única. Este tipo de secuencias se encuentran distribuidas al azar a través del genoma de una gran variedad de organismos, tanto en eucariotas como en procariotas (Toth et al., 2000). Algunos microsatélites se encuentran en exones, pero la mayor parte de estos loci suelen localizarse en regiones no codificantes y son selectivamente neutros, lo cual los hace compatibles con los supuestos de la mayor parte de las teorías de genética poblacional (Toth et al., 2000).

La tasa de mutación de los microsatélites se encuentra entre los órdenes 10^{-3} - 10^{-5}, dependiendo del locus y del organismo, siendo superior a la tasa de las mutaciones puntuales. Los mecanismos por los cuales los loci microsatélites mutan no quedan aún del todo claros. Aunque han sido propuestos diversos mecanismos para explicar este particular modo de evolución, el más aceptado es el que se da por el deslizamiento de la enzima polimerasa durante la replicación del ADN (Toth et al., 2000).

La presencia de secuencias conservadas no repetitivas flanqueando los motivos de repetición hace posible la amplificación selectiva de los diferentes loci microsatélites a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La determinación del número y

tamaño de los alelos (pares de bases) de cada loci microsatélite en cada individuo se logran visualizar mediante electroforesis en gel de poliacrilamida, donde los individuos homocigotas para una variante alélica tendrán un único tipo de producto de amplificación, mientras que en el caso de los heterocigotas se obtendrán dos fragmentos de distintos tamaños.

Por su alto grado de polimorfismo, su naturaleza neutra y su carácter codominante, los microsatélites son una de las herramientas más utilizadas en estudios poblacionales, evolutivos y de mapeo genético. Los microsatélites pueden ser utilizados para estimar el tamaño efectivo poblacional (Allen et al., 1995) y para comprender el grado de subestructuración poblacional incluyendo tanto la cantidad de migración entre subpoblaciones (Allen et al., 1995; Gottelli et al., 1994), como las diferencias genéticas entre las mismas (Bowcock et al., 1994; Forbes et al., 1995; Estoup et al., 1996; Lade et al., 1996).

El objetivo general de este capítulo es analizar la estructuración genética de las poblaciones de *M. musculus* en granjas avícolas a una escala microgeográfica, a fin de establecer el grado de intercambio genético entre éstas.

Los objetivos específicos son: **1-** establecer la existencia de diferenciación genética entre y dentro de poblaciones de distintas granjas avícolas, **2-** establecer la relación entre las diferencias genéticas y las distancias geográficas entre poblaciones de diferentes granjas.

Las hipótesis a poner a prueba son las siguientes: **1-** existe diferenciación genética entre poblaciones de diferentes granjas avícolas, **2-** existe diferenciación genética entre

individuos de diferentes galpones dentro de una misma granja avícola **3-** a mayor distancia geográfica las diferencias genéticas también se incrementarán.

Locus	Alelo	Granja y tamaño de la muestra (N)														
		1	2	3	5	8	21	22	24	25	27	28	29	30	31	32
		N = 12	N = 14	N = 7	N = 13	N = 10	N = 11	N = 10	N = 8	N= 15	N = 6	N = 16	N = 16	N = 10	N = 11	N = 6
D1mit122	*1*	-	-	-	-	-	-	-	0,07	-	-	-	-	0,10	-	-
	2	0,08	0,03	-	0,19	0,16	0,36	0,40	0,14	0,43	0,08	0,20	0,56	0,40	0,50	0,25
	3	0,08	0,21	0,07	0,35	0,28	-	0,30	0,29	0,30	0,25	0,50	0,10	0,20	0,35	0,50
	4	0,27	0,25	0,36	0,39	0,17	0,09	0,10	0,29	0,20	0,17	0,07	0,07	0,10	0,05	0,08
	5	0,35	0,43	0,57	0,08	0,28	0,55	0,20	0,21	0,07	0,50	0,23	0,27	0,20	0,10	0,17
	6	0,19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	0,03	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	-	0,04	-	-	0,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D4mit185	*1*	-	0,03	0,07	0,04	0,06	-	0,45	0.07	0,19	0,10	0,03	0,28	0,05	0,22	-
	2	0,46	0,90	0,93	0,40	0,50	0,27	0,15	0,07	0,04	-	0,30	0,16	0,10	-	0,17
	3	0,23	0,07	-	0,36	0,31	0,18	0,05	0,21	0,22	0,90	0,23	0,03	0,50	0,17	0,33
	4	-	-	-	0,10	0,13	0,23	0,05	0,43	0,35	-	0,27	0,34	0,10	0,39	0,42
	5	0,31	-	-	0,10		0,32	0,30	0,21	0,19	-	0,17	0,19	0,25	0,22	0,08
D3mit312	*1*	0,04	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	0,23	0,63	0,65	0,08	0,10	0,82	0,45	0,43	0,50	0,70	0,50	0,46	-	0,55	0,50
	3	0,46	0,17	0,14	0,50	0,30	0,18	0,25	0,21	0,32	0,10	0,25	0,15	0,25	0,15	0,42
	4	0,27	0,17	0,21	0,38	0,60	-	0,30	0,36	0,18	0,20	0,25	0,39	0,75	0,30	0,08
D5mit16	*1*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,08	0,03	0,09	0,35	0,30	0,25
	2	0,71	0,68	0,93	0,88	0,75	0,64	0,75	0,28	0,23	0,17	0,53	0,34	0,15	0,30	0,25
	3	0,29	0,14	-	0,12	0,20	0,27	0,10	0,36	0,53	0,50	0,16	0,50	0,40	0,35	0,50
	4	-	0,18	0,07	-	0,05	0,09	0,15	0,36	0,23	0,25	0,22	0,06	0,10	0,05	-
Mmu-2	*1*	-	0,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	0,09	-	-	0,12	0,25	-	0,20	-	0,33	0,08	0,09	0,04	0,10	-	-
	3	0,09	0,11	-	0,25	0,55	0,09	0,40	0,71	0,22	0,25	0,27	0,35	0,05	0,11	0,25
	4	0,23	0,61	0,21	0,50	0,15	0,32	0,25	0,07	0,28	0,50	0,36	0,53	0,40	0,28	0,17
	5	0,59	0,17	0,71	0,12	0,05	0,32	0,05	0,21	0,11	0,08	0,04	0,08	0,40	0,61	0,50
	6	-	-	0,07	-	-	0,27	0,10	-	0,05	0,08	0,14	-	0,05	-	0,08
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09	-	-	-	-
$\overline{He}$		0,64	0,52	0,38	0,59	0,63	0,59	0,69	0,64	0,70	0,57	0,70	0,65	0,66	0,66	0,69
$\overline{Ho}$		0,60	0,39	0,37	0,56	0,49	0,60	0,60	0,64	0,68	0,52	0,68	0,62	0,56	0,54	0,62
A		3,8	4	2,6	3,6	3,8	3,2	4	3,8	4	3,6	4,4	4	4,2	3,6	3,6
R		3,2	3,1	2,4	3,1	3,4	3	3,6	3,5	3,6	3,4	3,7	3,3	3,6	3,3	3,5

Tabla 4. Frecuencias génicas, heterocigosis esperada ($\overline{He}$) y observada ($\overline{Ho}$), número promedio de alelos (A) y riqueza alélica (R) por granja.

Se detectaron un total de 28 alelos para los 5 loci microsatélites (Tabla 3), analizados en 168 *Mus musculus* provenientes de 15 granjas avícolas. Las frecuencias alélicas para cada locus se encuentran detalladas en la Tabla 4.

Los loci seleccionados fueron altamente variables. La He por locus varió entre 0,55 y 0,71 con un promedio de 0,63; mientras que la Ho varió entre 0,49 y 0,64, con un promedio de 0,56 (Tabla 5). El número de alelos por locus presentó un rango de entre 8 y 4 (Tabla 5).

A nivel poblacional, la $\overline{He}$ varió entre 0,38 y 0,70; la $\overline{Ho}$ varió entre 0,37 y 0,68 (Tabla 4). La granja 3 presentó menores índices de diversidad ($\overline{He}$ y $\overline{Ho}$) y la granja 25 presentó los valores más altos de heterocigosis. Por otro lado, el número promedio de alelos por locus (A) varió entre 2,6 y 4,4; la riqueza alélica (R) varió entre 2,4 y 3,7 (Tabla 4). Para ambos casos (R y A), la granja 3 fue la menos variable y la granja 28 la población con mayor variabilidad.

Las frecuencias genotípicas correspondientes a los loci *D3mit132*, *D1mit122* y *Mmu2*, se desviaron significativamente de lo esperado por Hardy – Weinberg ($p< 0.05$). Estas desviaciones estuvieron determinadas por la granja 29 en el locus *D1mit122*, las granjas 2 y 8 en el locus *Mmu2*, y la granja 30 que mostró desviaciones en los tres loci. En todos los casos las desviaciones al equilibrio de Hardy – Weinberg fueron causadas por un déficit de heterocigotas, lo cual es consistente con los valores positivos y significativos de *f* para esos tres loci (Tabla 5).

Se observó diferenciación genética entre las granjas estudiadas ya que el parámetro θ que estima el índice F_{ST} (subdivisión genética de la población total), resultó significativo tanto al considerar el análisis de los locus por separado como en el análisis global (θ =

0,124 p <0,01; Tabla 5*)*. Por otro lado, existen evidencias de que los apareamientos no son aleatorios dentro de cada granja, ya que el parámetro *f* que estima el índice F_{IS}, resultó significativo para 3 de los 5 loci y para el análisis global (*f = 0,104 p = 0,01;* Tabla 5). Por último, la población total mostró un déficit de individuos heterocigotas con respecto a lo esperado por el equilibrio de Hardy - Weinberg (*F = 0,216 p = 0,01;* Tabla 5*)*,

Asimismo, se observó que la diferencia genética entre granjas aumentó con la distancia geográfica entre ellas (Test de Mantel, *r = 0.806; p = 0.01*) (Figura 8).

La diferenciación genética promedio entre galpones dentro de granjas, evaluada a través del estadístico θ resultó significativo (θ *= 0,14 p<0,01).*

Locus	**Alelos (pb)**							
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
D1mit122	134	138	142	146	150	154	158	162
D4mit185	104	108	112	116	120			
D3mit313	184	188	192	196				
D5mit16	120	140	144	148				
Mmu-2	153	161	165	169	173	177	181	

Tabla 3. Tamaños de los alelos (pares de bases) para cada locus, encontrados en el análisis de 168 *M. musculus* provenientes de 15 granjas avícolas.

Recolección de las muestras

La recolección de individuos para extraer las muestras de tejido, se llevó a cabo utilizando trampas de captura viva tipo Sherman instaladas en 15 granjas avícolas, ubicadas a distancias entre 200 m y 15 km (Figura 7) entre diciembre de 2004 y mayo de 2005.

A cada individuo capturado se lo anestesió y se registró su especie, longitud, peso, sexo, estado reproductivo, fecha y lugar de la captura. A los roedores de la especie *M. musculus* se les cortó un trozo de aproximadamente 1 cm de la punta de la cola que fue mantenido en alcohol 90%, para su posterior análisis con marcadores moleculares microsatélites que fueron parcialmente realizados en la Universidad Nacional de Córdoba y completados en el servicio de Secuenciación y Genotipado de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. Se analizó un total de entre 11 y 7 muestras por granja (Tabla 3).

Figura 7. Localización de las 16 granjas avícolas (círculos negros) utilizadas para el estudio de estructuración genética poblacional.

Loci seleccionados

Se eligieron 6 loci microsatélites teniendo en cuenta que pertenecieran a distintos cromosomas y a que presentaran varios alelos. A partir de un análisis preliminar se seleccionaron 5 de estos loci (Tabla 2), debido a que el sexto (*D2mit511*) no presentó variabilidad. Las secuencias completas de los microsatélites, su cantidad de alelos y su ubicación en los cromosomas se encuentran disponibles en www.bioinformatics.jax.org.

Locus	Secuencia del primer	Repetición	Temperatura de hibridización
D1mit122	*F:* GAAGCAAGATTCAAGAAGAGG *R:* CATACCTAGTAAGGCTTTGTC	$(TATC)_{13}$	50
D5mit16	*F:* GCTACATGGAACACATTTTAGG *R:* CCTGGAAATCCTCTTAGACC	$(CTAT)_{10}(TTAT)_4$	52
D3mit312	*F:* CAAATAATAATTCGAACAGGTGGG *R:* TCTCTAAGTTCAAGCAAGCATAG	$(CTTC)_{10}$	52
D4mit185	*F:* GAATGTATGATCCTATGGGGGC *R:* GTAGGTGGCAGGCACTAAAG	$(TATC)_7$	52
Mmu-2	*F:* GCATATGTAGAACATACCT *R:* AGAACTAGCAGATGAGAGTGGG	$(ATCT)_{11}$	52

Tabla 2. Microsatélites seleccionados para *Mus musculus.* En la segunda columna figuran las secuencias conservadas; en la tercera columna se observan las repeticiones posibles y en la cuarta columna la temperatura de hibridización de cada primer, utilizada en las PCRs.

Extracción de ADN Genómico

Se utilizó la técnica de extracción de ADN con bromuro de hexadecil-trimetil-amonia (CTAB) (Levitan y Grosberg, 1993), de acuerdo al siguiente protocolo:

1. Macerar las muestras de tejido (puntas de cola)
2. Agregar 500 µl de buffer de extracción CTAB (2% hexadecil-trimeti-amonio; 1.4 M NaCl; 0.2% 2-mercaptoetanol; 20 mM EDTA y 100 mM Tris (pH 8.0)) y 5 µl de proteinasa K (25 mg/ml de solución stock)
3. Incubar las muestras a 65 ºC por 90 min.
4. Extraer dos veces con 500 µl de una solución 25:24:1 de fenol:cloroformo:alcohol isoamílico
5. Centrifugar por 18 minutos a 8000 rpm y transferir el sobrenadante
6. Extracción con 500 µl de una solución 24:1 de cloroformo:alcohol isoamílico.
7. Centrifugar por 18 minutos a 8000 rpm y transferir el sobrenadante
8. Precipitar el ADN con 1 ml de etanol 95%
9. Mantener las muestras por 20 min a -20 ºC
10. Centrifugar por 20 min a 8000 rpm
11. Lavar el pellet con etanol 70%
12. Evaporar el etanol 70% durante toda la noche
13. Resuspender en 50 µl de de una solución formada por 10mM Tris y 1 mM EDTA (1X TE buffer).

Cuantificación de ADN genómico

Para determinar la calidad del ADN total obtenido se mezclaron 5 µl de ADN total de cada individuo con 1 µl de "buffer de siembra" (0,25% azul de bromofenol; 0,25% xilencianol FF, 40% sacarosa) y se sembraron en un gel de agarosa al 0,8% preparado con buffer TBE 0,5× (45mM Tris, 45 mM ácido bórico, 1 mM EDTA) y 0,005 µg/ml de bromuro de etidio. Para determinar la concentración de ADN obtenida se sembraron en el mismo gel 5 µl del marcador de peso molecular HindIII, de concentración conocida. El gel fue sometido a una corriente de 5 V/cm durante 40 minutos. Luego fue examinado bajo luz ultravioleta y las concentraciones de las muestras fueron estimadas por comparación visual con el marcador.

Amplificación por PCR

La mezcla de reacción para la PCR contiene, en un volumen total de 10 µl:

- 1X buffer de reacción (10 mM Tris-HCl (pH 8.3); 50 mM KCl)
- 2,5 mM MgCl2
- 60 µM de cada desoxirribonucleótido trifosfato (dNTPs)
- Cebador Directo 0.4 µM
- Cebador Reverse 0.4 µM
- 1,3 mM de Betaina
- 0,5 U de Taq ADN polimerasa
- 10 ng de ADN genómico

Las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador Biometra Uno II con el siguiente programa:

1. Un paso inicial de desnaturalización de 5 min a 94 ºC

2. 35 ciclos de :
    i. 30 seg a 94 ºC
    ii. 30 seg a temperatura de hibridización del primer (tabla 2)
    iii. 30 seg a 72 ºC
3. Un ciclo final de extensión de 5 min a 72 ºC

Las amplificaciones se sometieron a electroforesis en gel de poliacrilamida nativa al 8% junto con un marcador de 10 pb. Las corridas se realizaron a 280V por 3 horas. Los buffers utilizados fueron:

- Buffer electrodo: Tris-Glicina 1x (25 mM Tris, 192 mM Glicina)
- Buffer gel: Tris HCL 1x pH 8.9

Una vez finalizada la migración, los geles se tiñeron con SybrGreen y se fotografiaron.

Análisis de los datos

La cantidad de alelos por locus se determinó a partir de los tamaños (pb) de las bandas observadas para cada individuo en los geles de poliacrilamida. Las frecuencias de los alelos por locus por granja, se calcularon de la siguiente manera:

$$Fr\ i,x = \frac{h + 1/2\,H}{N_x}$$

Donde:

h = es el número de homocigotas para el alelo i en el locus x

H = es el número de heterocigotas para el alelo i en el locus x

N_x = el número de individuos analizados para el locus *x*

Se estimó la heterocigosis esperada en cada granja, de acuerdo a las frecuencias de los distintos alelos para cada locus y asumiendo que la población de cada granja está en equilibrio de Hardy – Weinberg (apareamiento aleatorio):

$$He\ i = 1 - \sum pi^{2}$$

Donde:

pi = frecuencia de los alelos en el locus *i.*

Luego, se calculó una heterocigosis esperada promedio por granja ($\overline{He}$) teniendo en cuenta las *He* obtenidas para cada locus:

$$\overline{He} = \frac{1}{L}\sum_{i}^{L} He\,i$$

Donde:

L = número de loci.

La $\overline{He}$ por granja fue obtenida mediante el programa TFPGA versión 1.3 (Miller, 2000).

Por otro lado, la heterocigosis observada promedio en cada granja ($\overline{Ho}$) se estimó calculando la frecuencia relativa de los heterocigotas para cada locus y dividiendo por el total de loci. La $\overline{Ho}$ fue calculada mediante el programa TFPGA versión 1.3 (Miller, 2000).

$$\overline{Ho} = \frac{1}{L}\sum_{i}^{L}\frac{Hoi}{N}$$

Donde:

Ho = son los heterocigotas observados para el locus *i.*

N = es el número de individuos muestreados en la granja

L = número de loci.

Se utilizaron también, como indicadores de variabilidad poblacional, el número promedio de alelos por locus (**A**) que se estima sumando la cantidad de alelos presentes en cada locus y dividiendo por el número total de loci (en este caso 5); y la riqueza alélica (**R**) que estima la cantidad de alelos, pero a diferencia de **A,** es independiente del tamaño muestral. Este parámetro fue calculado utilizando el programa FSTAT versión 2.9.3.2 (Goudet, 2002).

Las diferencias entre las proporciones de **He** y **Ho** para cada población se evaluaron a través del test de scores utilizando el estadístico U (Rousset y Raymond, 1995). Las hipótesis alternativas de exceso y deficiencia de heterocigotas se analizaron según lo indicado por el programa GENEPOP versión 1.2 (Rousset y Raymond, 1995).

Para determinar la estructura genética de las poblaciones se utilizaron los índices de fijación, F_{IT}, F_{IS} y F_{ST} (Wright 1965, 1978), de acuerdo a las ecuaciones de Nei (1977):

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_I}{H_T} \qquad F_{IS} = \frac{H_S - H_I}{H_S} \qquad F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

Donde,

H_I = heterocigosis promedio observada (frecuencia de individuos heterocigotas) por población (granja).

H_S = heterocigosis promedio esperada (siguiendo el equilibrio de Hardy – Weinberg) por población (granja).

H_T = heterocigosis esperada (siguiendo el equilibrio de Hardy – Weinberg) en la población total, es decir, teniendo en cuenta todas las granjas a la vez.

De esta manera el índice $\mathbf{F_{IT}}$ es una medida del exceso o defecto de homocigotas en la población total**.** El índice $\mathbf{F_{IS}}$ es el coeficiente de endogamia, y es una medida del apareamiento aleatorio dentro de cada población**.** Por otro lado, el parámetro $\mathbf{F_{ST}}$ determina el grado de subdivisión genética de la población total.

Estos índices fueron estimados a través del *estadístico F* usando las estimaciones de Weir y Cockerham (1984), donde θ es un estimador del parámetro F_{ST}, f estima el parámetro F_{IS} y F estima el parámetro F_{IT}. Para esta parte del análisis se utilizó el programa FSTAT versión 2.9.3.2 (Goudet, 2002).

Además, para determinar si existe diferenciación genética entre los distintos galpones de una misma granja, se analizó la estructura genética dentro de cada granja considerando que cada una de ellas está dividida en una determinada cantidad de galpones. Se utilizaron aquellas granjas que tuvieron al menos 5 individuos por galpón (N = 9). Para calcular el índice F_{ST} se usó el programa TFPGA versión 1.3 (Miller, 2000).

Por último, se evaluó la existencia de un patrón de aislamiento por distancia entre las poblaciones mediante la correlación entre la matriz de F_{ST} y la de distancia geográfica entre todos los pares de poblaciones. La correlación entre estas dos matrices se realizó mediante

el Test de Mantel utilizando el programa TFPGA (Miller, 2000).

Locus	n	*Ho*	*He*	*f*	*θ*	*F*
D1mit122	8	0,64	0,71	0,115*	0,079	0,185*
D4mit185	5	0,59	0,63	0,057	0,178*	0,225*
D3mit312	4	0,49	0,58	0,123*	0,112*	0,222*
D5mit16	4	0,52	0,55	0,042	0,137*	0,172
Mmu-2	7	0,54	0,67	0,186*	0,114*	0,279*
Promedio		0,56	0,63	0,104*	0,124*	0,216*

Tabla 5. Medidas de diversidad genética (*Ho* y *He)* por locus y en promedio, y de la diferenciación genética (*f*, *θ* y *F*) entre 15 granjas, a través del análisis de 5 loci microsatélites.

Ho es la heterocigosis observada y *He* la heterocigosis esperada; *f* estima al parámetro F_{IS}, *θ* estima a F_{ST} y *F* estima a F_{IT}. Los asteriscos indican los valores significativos *(* $p<0.01$)*.

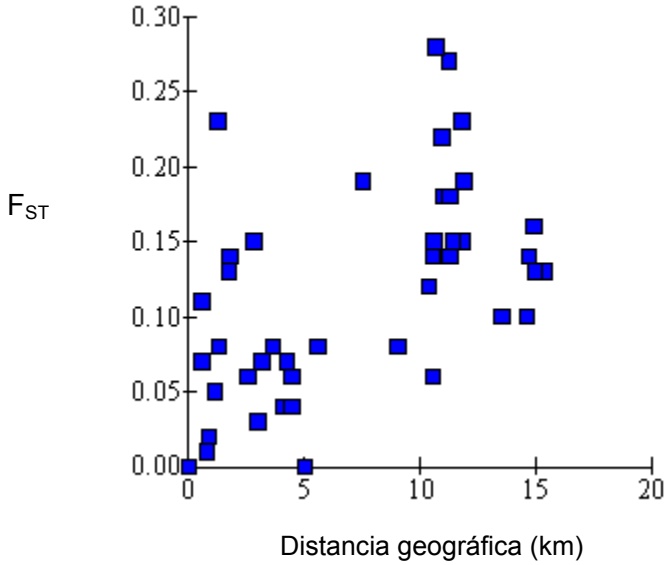

Figura 8. Gráfico de puntos entre los Fst y las distancias geográficas en Km para cada par de poblaciones. El coeficiente de regresión es *r = 0,806; p = 0,01.*

Nuestros resultados sugieren que *Mus musculus* en el área de estudio está distribuido en grupos genéticamente diferenciadas en términos de las frecuencias alélicas de los microsatélites estudiados, tanto a la escala de granja, como a una escala menor entre galpones de cría de una misma granja.

La magnitud del flujo génico entre los distintos grupos depende del movimiento de los individuos y de su reproducción exitosa en los nuevos hábitats. La magnitud de los movimientos está determinada por características propias de la especie, por el ambiente y por la relaciones interespecíficas, mientras que la reproducción exitosa dependería de la inserción de los migrantes en los nuevos grupos, determinada por características comportamentales como la territorialidad.

Como se dijo anteriormente, el rango de movimientos de *M. musculus* en hábitats comensales es pequeño, especialmente en condiciones de alta disponibilidad de recursos, y baja densidad. En las granjas avícolas hay alta oferta de alimento, y si bien en ocasiones se alcanzan altos niveles de abundancia, esta sufre disminuciones periódicas debido a las medidas de control implementadas, lo cual favorecería la adquisición de territorios de los juveniles sin necesidad de dispersarse.

Por otro lado, las granjas estudiadas representan para *M. musculus* parches de hábitat favorables relativamente aislados en el espacio, por encontrarse inmersos en un ambiente menos favorable conformado por campos de cultivo y sus bordes, montes, pastizales y pasturas, donde se encuentran especies de roedores nativas que serían competitivamente superiores (Busch et al., 2005). Estas características del ambiente y la competencia interespecífica podrían estar restringiendo la magnitud de los movimientos entre las granjas

donde la probabilidad de movimientos exitosos sería mayor cuanto más cercanas se encuentren, lo que se evidencia en la diferenciación genética correlacionada positivamente con la distancia entre granjas. Por otro lado, si bien capturas ocasionales de esta especie en hábitats silvestres confirman que existen algunos movimientos por fuera de los hábitats comensales (Kravetz y De Villafañe, 1981; Bilenca y Kravetz, 1995; Busch et al., 1997; Busch et al., 2001, Busch et al., 2005), la desaparición de *M. musculus* de una granja donde era abundante luego de que fue abandonada, confirma la dificultad de esta especie para mantener poblaciones estables en ambientes no antrópicos (observaciones personales).

Una alternativa para la existencia de flujo génico entre las granjas es el transporte pasivo por el hombre, pero en ese caso no se esperaría observar la correlación entre las distancias genéticas y geográficas, ya que el transporte pasivo de ratones tendería a diluir las diferencias genéticas tanto entre granjas cercanas como alejadas.

Por otro lado, la ausencia de apareamientos aleatorios dentro de las granjas estudiadas y la diferenciación genética entre galpones, pueden ser consecuencia del comportamiento territorial que presenta *M. musculus* en ambientes comensales, y que genera grupos reproductivamente aislados (demes), como ha sido reportado en muchos trabajos (Anderson, 1970; Berry, 1986; Manning et al., 1995). Singleton (1983) observó que incluso en casos de haber un flujo continuo de roedores transeúntes hacia un grupo social establecido, estos individuos no contribuían significativamente al pool génico del grupo. Por el contrario, cuando los grupos son inestables la organización social de la especie probablemente tenga sólo un efecto temporal sobre la composición genética, produciendo una mezcla de genes capaz de mantener la variabilidad genética dentro de la población. En

el caso de las granjas estudiadas, esperaríamos que los grupos sociales no se mantengan en el tiempo debido a la eliminación de individuos por la aplicación de anticoagulantes, una explicación alternativa para la falta de apareamientos entre galpones se debería a los escasos movimientos, incluso a esta escala.

CAPÍTULO V.

MOVIMIENTOS DE *MUS MUSCULUS* EN GRANJAS AVÍCOLAS.

En capítulos anteriores se analizaron distintas evidencias del grado de interconexión entre poblaciones de *M. musculus* pertenecientes a diferentes granjas avícolas. De acuerdo a los resultados obtenidos en el Capítulo III, el efecto de los movimientos desde poblaciones vecinas hacia las poblaciones locales sería poco importante frente a los efectos de las características intrínsecas de las granjas. Por otro lado, en el capítulo IV se observó la existencia de un patrón de aislamiento genético por distancia geográfica, y una correlación positiva entre las distancias geográficas a las que se encuentran las granjas y las distancias genéticas, indicando nuevamente que los movimientos entre granjas serían escasos y dependerían de la distancia.

Los datos anteriores ofrecen evidencias indirectas de los movimientos realizados por *M. musculus,* pero existen métodos más directos para estimar los movimientos de los roedores, como el método de captura, marcado y recaptura (CMR), seguimiento con radio rastreo y marcado con polvos fluorescentes. En el primer caso, es necesario capturar y marcar un buen número de animales para garantizar un número suficiente de registros de recapturas, en sucesivas ocasiones (Hayne, 1949). En los casos de especies que muestran baja tasa de recaptura, como *M. musculus*, no sería aconsejable la utilización de este método. Asimismo, las recapturas se basan en un aparato de trampeo que presenta limitaciones en el espacio, por lo que muchos de los movimientos no pueden ser detectados, por ejemplo, los realizados por fuera del área de influencia de éste. Por último, mediante este método se puede estimar la distancia entre dos puntos de captura, pero se desconocen las trayectorias realizadas por los ratones entre esos puntos, asumiéndose en general como distancias lineales (Aplin et al., 2003; Drickamer et al., 1999). Una mejor aproximación para el

estudio de los movimientos es el uso de la técnica de radio rastreo (Cochran y Lord, 1963). En este método, los individuos son marcados con collares que emiten determinadas frecuencias de radio, de manera que pueden ser posteriormente localizados mediante un receptor. La ventaja de este método respecto al de CMR, es que no presenta la limitante espacial para la relocalización (excepto la impuesta por el alcance de los radio collares), ni depende de la recaptura de los individuos. Sin embargo, es un método muy costoso, lo que dificulta la cantidad de ejemplares que se puede estudiar. Por otro lado, si bien se pueden registrar las ubicaciones de los animales permanentemente, en el caso de tener estaciones fijas y un sistema que graba los datos, en muchas ocasiones se toman localizaciones puntuales y no se registran las trayectorias. Otra técnica más económica y que permite trazar las trayectorias realizadas, e incluso localizar las cuevas, es la utilización del marcado de animales con pigmentos fluorescentes (Lemen y Freeman, 1985). La desventaja de este método es que los rastros dejados por los individuos no duran mucho tiempo, aunque esto suele variar según el sustrato y las condiciones meteorológicas, y tampoco sirven para distancias muy largas, porque los animales van perdiendo el polvo a medida que se mueven. Sin embargo, resultan útiles para especies cuya área de acción no es demasiado extensa, como el caso de los roedores. Por ejemplo, Nicolas y Colyn (2007) estudiaron los movimientos de roedores en un hábitat de selva mediante el seguimiento de rastros con pigmentos fluorescentes, pudiendo registrar movimientos de hasta 60 m. Por otro lado, Jike et al. (1988) compararon las técnicas de radio rastreo y pigmentos fluorescentes para el estudio de los movimientos de *Microtus ochrogaster* y concluyeron que ambas metodologías son equivalentes para determinar las áreas de acción de este roedor.

Una desventaja adicional que presenta el uso de los pigmentos fluorescentes es que el marcado con colores puede hacer más visibles los animales para los depredadores. Sin embargo, en ambientes restringidos y donde los riesgos de depredación no son muy elevados, como es el caso de las granjas avícolas, esta técnica puede resultar útil para determinar los movimientos

El rango de movimientos de *M. musculus* suele variar según las condiciones del hábitat (Berry y Jakobson, 1974; Pocock et al., 2005; Witmer y Jojola, 2006). En hábitats comensales donde la disponibilidad de alimento es alta, las áreas de acción suelen ser pequeñas, con distancias máximas recorridas entre 4 y 5 m (Brown, 1953; Pocock et al., 2005). En ambientes silvestres, por otro lado, *M. musculus* suele recorrer distancias mayores, entre 8 y 20 m (DeLong, 1967; Stickel, 1979). Asimismo, los movimientos también pueden variar según el sexo y la clase de edad. Generalmente se observa que los machos realizan mayores movimientos y presentan áreas de acción más grandes que las hembras (Chambers et al., 2000). Por otro lado, bajo ciertas condiciones ambientales que permiten alcanzar altas abundancias poblacionales, son los individuos subordinados, generalmente los juveniles, quienes dispersan a otros sitios y por lo tanto los que realizarían mayores movimientos (DeLong, 1967; Mackintosh, 1981). Por otro lado, en sistemas agrícolas de Australia se observó que las áreas de acción de *M. musculus* varían a lo largo del año, siendo mayores en la estación no reproductiva (Chambers et al., 2000).

Los distintos hábitats disponibles en las granjas avícolas para *M. musculus* son las habitaciones humanas, los galpones de cría (tanto en presencia como en ausencia de pollos), los galpones de maquinaria y de materiales o depósitos de alimentos,

acumulaciones de diversos materiales, y bajo las alambradas perimetrales donde la cobertura vegetal es alta. Para poder planificar medidas de control mediante la aplicación de cebos anticoagulantes, es necesario conocer no sólo los sitios donde están presentes los roedores y su abundancia, sino también los movimientos que se producen tanto dentro de cada tipo de hábitat, como entre hábitats, y hacia la periferia de las granjas, a fin de elegir los sitios de aplicación de rodenticidas. Los rangos de movimientos pueden influir también sobre los posibles efectos de medidas de saneamiento que impliquen perturbaciones del hábitat, como eliminación de materiales, que generan movimientos de roedores hacia áreas no perturbadas. Por otro lado, el rango de movimientos, determinaría la probabilidad de expansión de las mutaciones asociadas a la resistencia a anticoagulantes entre granjas. A pesar de que la dinámica espacial de los roedores afecta al éxito de las medidas de control, existen pocos datos empíricos acerca de movimientos en sistemas afectados por roedores plaga (Krebs, 1999).

En estudios previos de captura marcado y recaptura realizados en granjas avícolas del área de estudio se detectaron escasos movimientos de *M. musculus*, pero el bajo número de recapturas no permitió obtener resultados concluyentes (Valenzuela, 2001, Miñarro, 2002). Por lo tanto, en el presente capítulo nos proponemos estudiar los movimientos de *M. musculus* en granjas avícolas, utilizando la técnica de polvos fluorescentes. Los objetivos específicos son: **1-** estimar las distancias recorridas diariamente, **2-** evaluar la existencia de movimientos entre galpones, **3-** evaluar la existencia de movimientos desde galpones hacia la periferia de la granja **4-** Comparar los movimientos entre sexos y clases de edades, **5-**

comparar los movimientos según la época del año, y **6-** comparar los movimientos de acuerdo a la presencia de pollos en los galpones.

Se realizaron capturas de roedores en seis granjas avícolas. Los roedores fueron capturados con trampas de captura viva tipo Sherman colocadas en los laterales de todos los galpones de cada una de las granjas avícolas. Los muestreos se realizaron estacionalmente desde mayo de 2007 hasta febrero de 2008, y se cubrieron períodos con presencia y ausencia de pollos en el interior de los galpones.

Para determinar los movimientos de los roedores se utilizó el método de pigmentos fluorescentes (Lemen & Freeman, 1985). Los roedores capturados fueron introducidos en una bolsa de nylon conteniendo una pequeña cantidad de polvo fluorescente de diferentes colores (Radiant color Richmond CA) (Foto 2 a y b). Una vez coloreados, fueron liberados en el sitio de captura (Foto 2 c). Debido a los hábitos principalmente crepusculares de los roedores, los rastros se registraron durante la segunda noche luego de la liberación, y mediante linternas con luz ultravioleta se visualizaron los rastros para poder medirlos con cinta métrica.

Para cada animal capturado se registró: fecha y lugar de la captura, su longitud, peso, sexo y estado reproductivo. De acuerdo al peso corporal de los roedores, se los clasificó en tres clases de edad: juveniles, subadulos y adultos, siguiendo la clasificación de Drickamer et al. (1999).

Se compararon los movimientos, estimados a partir de la longitud máxima registrada, entre sexos, clases de edad (subadultos y adultos) épocas del año (estación fría: otoño-invierno y estación cálida: primavera-verano), y cada una de las interacciones posibles (sexo - clase de edad, sexo - época de año, clases de edad - época del año y sexo - clase de edad - época del año) mediante un ANOVA multifactorial (Zar, 1996).

Asimismo, se compararon las distancias recorridas teniendo en cuenta los períodos con presencia y ausencia de pollos en los galpones de cría, mediante un Test de *t* de diferencia de medias (Zar, 1996).

Se estudiaron los movimientos de 39 individuos de *M. musculus* capturados en trampas colocadas sobre las paredes externas de los galpones de pollos, y que fueron liberados en el mismo lugar de captura. En todos los casos los rastros fueron observados a lo largo de la pared inferior de chapa del galpón, en el alambre tejido que la continúa y/o sobre la lona que se utiliza para cubrir la pared. Es decir, los movimientos registrados fueron lineales, paralelos a los galpones, a corta distancia de éstos, y no se observaron movimientos alejándose de ellos, hacia otros galpones o hacia los perímetros de las granjas. En varias ocasiones se observaron rastros hacia el interior de cuevas, éstas siempre estuvieron localizadas en la tierra y fueron contiguas a las paredes de los galpones o situadas a muy pequeña distancia de ellas. De los 39 rastros registrados, nueve terminaron dentro de cuevas. En algunos casos se observó que el rastro se perdía hacia adentro del galpón y reaparecía a cierta distancia en el exterior. En ciertas ocasiones se logró visualizar rastros sobre la pared interna del galpón, estos registros se pudieron realizar sólo cuando no había pollos en el interior de los galpones, ya que no se permitió el ingreso mientras éstos estaban presentes.

El rango de movimientos detectados fue entre 1,55 m y 58 m, con un promedio de 11,7 m (± 9,31) para machos y 12,34 m (±13,46) para hembras (Tabla 5).

Clase de edad	Distancia recorrida (m)	
	Machos	Hembras
Juvenil	29,6	
	11,07	
Subadulto	4	6,57
	20	6,67
	12,17	10,27
	20,50	
	2,72	
	13,6	
	15,75	
	9,55	
	3,60	
	3,51	
Adulto	11	13,50
	5	12,05
	6,70	2,70
	10,16	5,80
	4,80	13,66
	37,47	7,10
	2,38	13,80
	8,32	18,11
	14,30	1,55
		58,00
		4,33
		11,00
Media	11,72	12,34
DS	9,10	13,47

Tabla 5. Distancia recorrida para machos y hembras de *M. musculus* para cada clase de edad: juvenil, subadulto y adulto.

No hubo diferencias significativas en el rango de movimientos según el sexo, clases de edades o épocas del año (Tabla 6).

	GL	*F*	*p*
Sexo	1	0.22	0.64
Edad	1	0.04	0.85
Época del año	1	0.00005	0.99
Sexo * Edad	1	0.0018	0.97
Sexo * Época del año	1	0.24	0.62
Edad * Época del año	1	0.09	0.77
Sexo * Edad * Época del año	1	0.01	0.92

Tabla 6. Resultado del ANOVA factorial para los movimientos de *Mus musculus* según sexo, clase de edad y época del año. Ninguna de las comparaciones realizadas resultó significativa.

La distancia promedio recorrida por los roedores en períodos con presencia de pollos en los galpones fue de 9,92 m, y de 14 m cuando los galpones estuvieron vacíos. Si bien los movimientos fueron mayores en los galpones sin pollos, las diferencias no fueron significativas ($t\ 32 = -0,8$; $p = 0,43$).

Debido a que en ninguna de las ocasiones el seguimiento del rastro concluyó encontrando el roedor coloreado, las distancias que se estimaron son las mínimas recorridas. Los datos que se obtuvieron, desde 2 m hasta 58 m, coinciden con el rango relativamente amplio de valores registrados para *M. musculus* en otros países (Brown, 1953; Baker y Petras, 1986; Chambers et al., 2000).

Contrariamente a lo observado, se esperaba registrar rastros hacia el interior de los galpones donde se encuentra el alimento de los pollos, y donde frecuentemente se observan roedores, especialmente cuando no están las aves. No podemos descartar que se produzcan estos movimientos, ya que es posible que en el sustrato del interior de los galpones, formado por cáscara de trigo o girasol, no se fije el polvo. Para resolver este problema, en estudios futuros podría implementarse la utilización conjunta de técnicas, es decir, CMR y pigmentos fluorescentes, colocando trampas en el interior de los galpones y a su alrededor.

Con respecto a los movimientos observados por fuera de los galpones, nuestras evidencias sugieren que *M. musculus* se mueve poco entre los galpones o hacia la periferia de las granjas. Este resultado concuerda con los movimientos observados en estudios preliminares realizados en granjas avícolas del área de estudio (Valenzuela, 2001), con la diferenciación genética observada a nivel galpón en el Capítulo IV de esta tesis, y con los movimientos observados para *M. musculus* en granjas de otros países (Brown, 1953; Pocock et al., 2004).

No registramos variaciones estacionales en los movimientos, ni de acuerdo a las características individuales, sin embargo, esto podría deberse al bajo número de ejemplares analizados en cada una de las categorías (edad – sexo – época), y asimismo, para tener un

dato más confiable, sería conveniente ampliar el estudio con un mayor número de ejemplares y poder seguir cada ejemplar durante más de una noche.

En conclusión, el rango de movimientos observado en los *M. musculus* estudiados, coincide con lo observado en ambientes comensales similares en otros países (Brown, 1953; Pocock et al., 2004; Pocock et al., 2005) y con las evidencias encontradas en los capítulos anteriores en cuanto a que las granjas avícolas están poco conectadas, ya que las distancias entre ellas generalmente exceden los 58 m (valor máximo registrado).

CAPÍTULO VI.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL CONTROL DE ROEDORES A DIFERENTES ESCALAS ESPACIALES.

Los intentos del hombre por controlar los roedores han incluido la aplicación de sustancias químicas (principalmente cebos anticoagulantes), remoción mediante la instalación de trampas, y modificaciones ambientales tendientes a disminuir la disponibilidad de refugios y alimento, así como el reclutamiento y supervivencia de los individuos. Todas estas medidas no son exitosas si no se tienen en cuenta las especies que componen la comunidad, su uso del hábitat, su dinámica poblacional y de las características del área donde el programa de control será aplicado (Singleton at al., 1999). Por otro lado, las estrategias de control de una especie plaga deben incluir no sólo métodos que disminuyan sus abundancias a corto plazo, sino también aquéllos tendientes a que éstas se mantengan a lo largo del tiempo por debajo de un nivel umbral a partir del cual causan perjuicios .

Uno de los principales problemas para que el control sea efectivo a largo plazo, es la recolonización desde áreas no tratadas, que depende en parte de la movilidad de la especie que se quiere controlar, y por lo tanto es una de las principales características a tener en cuenta para definir la escala de la aplicación de un determinado control. Si la especie realiza grandes movimientos, su control será efectivo cuando se realice en áreas comparativamente grandes. A su vez, la capacidad de migración dependerá de las características y de la estabilidad del ambiente (Richards y Buckle, 1987).

La integración de los conocimientos biológicos y ecológicos de las especies a controlar constituye la base del *Manejo de plagas con fundamentos ecológicos* (Singleton et al., 1999), cuyo objetivo es suprimir o disminuir la especie plaga en cuestión con un impacto mínimo sobre la salud, el ambiente y las especies no blanco (Flint et al., 2003).

Además de la recolonización, otra de las causas del fracaso de los métodos de control a largo plazo es la existencia de mecanismos compensatorios de la abundancia que actúan a través de cambios en la reproducción, supervivencia y reclutamiento (Brown y Tuan, 2005). Si bien se ha observado que la recuperación de las poblaciones luego de la aplicación de un control se debe principalmente a la inmigración (French et al., 1968; Brown and Tuan, 2005), también pueden ocurrir respuestas densodependientes, como una elevada capacidad reproductiva de los animales que sobreviven (aumentos en la tasa de reproducción y tamaño de camada) o altas tasas de supervivencia tanto de los individuos adultos como de los juveniles (Brown y Tuan, 2005).

En el caso de las granjas avícolas del área de estudio son los dueños de las granjas quienes invierten tiempo y dinero en el control de roedores, los cuales son implementados principalmente a través de manejos ambientales, como el mantenimiento de las cobertura vegetal baja y eliminando la acumulación de desechos orgánicos e inorgánicos alrededor de los galpones, y además realizan aplicación de rodenticidas anticoagulantes (Gómez Villafañe et al., 2001), usualmente sólo en el interior o en los alrededores de los galpones de pollos. Estas medidas son usualmente realizadas durante el período en que los galpones están vacíos, o de manera "reactiva" cuando se observan signos de presencia de roedores, y nunca son seguidas de una evaluación de la efectividad.

La infestación de las granjas se produce por las especies comensales *M. musculus*, *R. norvegicus*, *R. rattus* y especies silvestres, principalmente *C. laucha* (en galpones) y *A. azarae* (en los perímetros). Sin embargo, en algunas ocasiones también se observan otras especies silvestres, como *C. musculinus* (reservorio del virus Junín, agente causal de la Fiebre Hemorrágica Argentina) y *Oligoryzomys flavescens* (reservorio del hantavirus). La

presencia de estas últimas especies reviste un riesgo sanitario debido a que en los galpones ingresan trabajadores sin ningún tipo de protección y el movimiento de las aves o durante las tareas de limpieza producen un polvillo que puede acarrear restos de heces y orina de roedores, y puede favorecer la transmisión de enfermedades. La aplicación de medidas de control solamente en los galpones podría favorecer el ingreso de estas especies silvestres desde los perímetros (Miñarro, 2002).

Debido a la importancia del efecto de la recolonización sobre el éxito de las medidas de control de roedores, y que esta podría implicar el ingreso de especies silvestres que transmiten enfermedades al hombre, en este capítulo nos proponemos comparar los efectos de medidas a 3 escalas: **1-** control de roedores sólo en los galpones, realizado por los dueños, **2-** control a nivel de granja, el cual incluye a todos los galpones y a sus límites perimetrales y **3-** control a nivel de granjas y su vecindad.

La hipótesis de trabajo es que si la recolonización desde sitios no tratados contribuye a la recuperación de las poblaciones de roedores en las granjas, entonces se espera que el efecto de la aplicación del control sea mayor y de mayor duración en aquellas donde se controló a nivel de granja y sitios vecinos respecto a donde se controla sólo la granja.

Diseño experimental

El experimento de aplicación de control a diferentes escalas se realizó entre junio y octubre de 2006. Los tratamientos que se aplicaron a las granjas avícolas fueron: **1-** manejo de la granja realizado por sus propietarios (**C**), **2-** aplicación de rodenticida alrededor de los galpones de cría y en su perímetro (**G**) y **3-** aplicación de rodenticida alrededor de los galpones de cría, en su perímetro y en sus alrededores (hasta 50 m desde su perímetro) (**G+A**).

Las granjas del grupo **C** estuvieron sujetas al control estándar realizado por sus propietarios. Este control es bastante variable dependiendo de la granja y del momento en que se realiza el control. Sin embargo, se considera que en los tratamientos **G** y **G+A** se incrementó notablemente la cantidad de anticoagulante aplicada con respecto a las aplicadas por los dueños. La comparación con controles sin aplicación de cebos no fue posible debido a que en todas las granjas del área se usan anticoagulantes de algún tipo.

Los tres tratamientos fueron asignados al azar entre 12 granjas avícolas (4 por tratamiento), las cuales fueron previamente seleccionadas sobre la base de la presencia de roedores, el consentimiento de los dueños, y a partir de muestreos preliminares realizados entre junio y julio de 2006.

Durante el desarrollo del experimento se descartó del análisis una de las granjas del grupo **C** debido a que cambió de propietarios y sus nuevos dueños incrementaron las medidas de control de roedores, haciéndola más parecida a una granja del grupo **G**.

Aplicación de cebos anticoagulantes en las granjas

Se utilizó como anticoagulante la bromadiolona ((hidroxi-4´-cumarinil-3´)-3-fenil-3-(bromo-4-bifenil-4´)-1 propanol) debido a que es el utilizado con mayor frecuencia en la zona de estudio. Se aplicó entre 1,32 a 3,32 kg/ha de veneno anticoagulante en bloques de parafina de 20 g de 5x5x5 cm^3 y con una concentración de 0.005%. Se calculó la cantidad de anticoagulante por granja siguiendo las recomendaciones del fabricante (aplicación de 1 a 3 kg de rodenticida por hectárea). Los bloques de parafina fueron colocados dentro de tubos de PVC (de 5 cm de diámetro y 10 cm de largo) para evitar el acceso a especies no blanco. Este tamaño permitía el acceso tanto a roedores pequeños como a ratas. Las estaciones de cebo y el bloque de parafina estuvieron fijados con alambre a la tierra para evitar que el anticoagulante pudiera ser extraído y consumido por alguna otra especie. El anticoagulante permaneció colocado durante 20 días consecutivos y fue revisado para su reposición cada 4 días (Dubock, 1982). Una vez transcurridos los 20 días todos los cebos anticoagulantes remanentes fueron retirados de los galpones, perímetros y áreas vecinas. Esta parte del experimento fue realizada desde julio a agosto de 2006.

En las granjas del grupo **G**, las estaciones de cebo fueron colocadas cada 10 m alrededor de las paredes de cada galpón y a lo largo de los alambrados perimetrales de la granja. Para las granjas del grupo **G+A** se colocó anticoagulante cada 10 m alrededor de los galpones y del perímetro, y además se colocó una línea de cebos anticoagulantes, instalados cada 10 m, hasta una distancia de 50 m aproximadamente desde el alambrado perimetral de la granja (Figura 4). Esta línea de cebos anticoagulantes fue instalada en campos de cultivo, pasturas o corredores cubiertos por vegetación. Se colocó un promedio de 15 cebos anticoagulante alrededor de los galpones y 84 alrededor de los perímetros y áreas vecinas. Los cebos

colocados alrededor de los galpones tenían como principal blanco a *M. musculus*, ya que es la especie más abundante en estos ambientes, mientras que los de los perímetros y alrededores podían afectar principalmente a *A. azarae* y otras especies silvestres, ya que *M. musculus* es poco abundante en los alrededores de las granjas (ver resultados Capítulo III).

Evaluación de la abundancia de roedores

-Estaciones de alimento

Para evaluar la abundancia de roedores se colocaron estaciones de alimento que consistían de un recipiente plástico de 250 cm^3 conteniendo 10 gr de semillas de trigo (equivalente a 9 gr en peso seco). Cada estación tenía una abertura de 3 – 4 cm de diámetro en uno de sus extremos para permitir el acceso de roedores (las mismas especies que las que podían consumir los cebos anticoagulantes) a las semillas de trigo (Foto 2). Se colocaron de 10 a 14 estaciones (dependiendo del tamaño del galpón) a intervalos de 20 m alrededor de todos los galpones de cada granja (Figura 4). Luego de un período de 4 días se recolectó cada estación para pesar su contenido en el laboratorio.

Las semillas remanentes de cada estación fueron secadas en estufa a 80º C por 48 horas y luego fueron pesadas. Este peso seco fue comparado con los 9 g correspondientes al peso seco de los 10 g de semillas colocados inicialmente. Se consideró que en una estación hubo consumo cuando la diferencia entre el peso seco inicial y final fue mayor a 0,5 g. El consumo por roedores fue confirmado por la presencia de heces, y se descartaron de los análisis las estaciones que presentaron evidencias de consumo por hormigas.

La efectividad del control fue evaluada mediante las diferencias de abundancias entre el inicio del experimento y diferentes tiempos luego de retirados los cebos anticoagulantes: previo a la aplicación de tratamientos (t_0), en el momento de retirar el rodenticida (t_1), a los 15 días de retirado el rodenticida (t_2), a los 30 días de retirado el rodenticida (t_3), y a los 60 días de retirado el rodenticida (t_4).

Las diferencias en el porcentaje de estaciones con consumo entre el muestreo preliminar (t_0) y cada tiempo posterior a la aplicación de rodenticida (t_1, t_2, t_3 y t_4) fueron comparados entre tratamientos por medio del Test no paramétrico de Kruskal – Wallis (Zar, 1996). Cuando el test de Kruskal – Wallis mostró diferencias significativas entre tratamientos, se realizaron Comparaciones Múltiples *a posteriori* para tamaños de muestras desiguales (Siegel y Castellan, 1998).

-*Estaciones de cebo*

Como una estimación adicional de la abundancia se utilizó el porcentaje de estaciones de cebo donde hubo consumo.

Para comparar los tratamientos (C, G y G+A) y los hábitats (galpones versus perímetros + áreas vecinas) en el porcentaje de anticoagulante consumido durante la primer semana de tratamiento (como una estimación de la abundancia de roedores al comienzo del experimento), y durante los primeros 20 días luego del comienzo de los tratamientos, se realizó una ANOVA de dos factores (Zar, 1996).

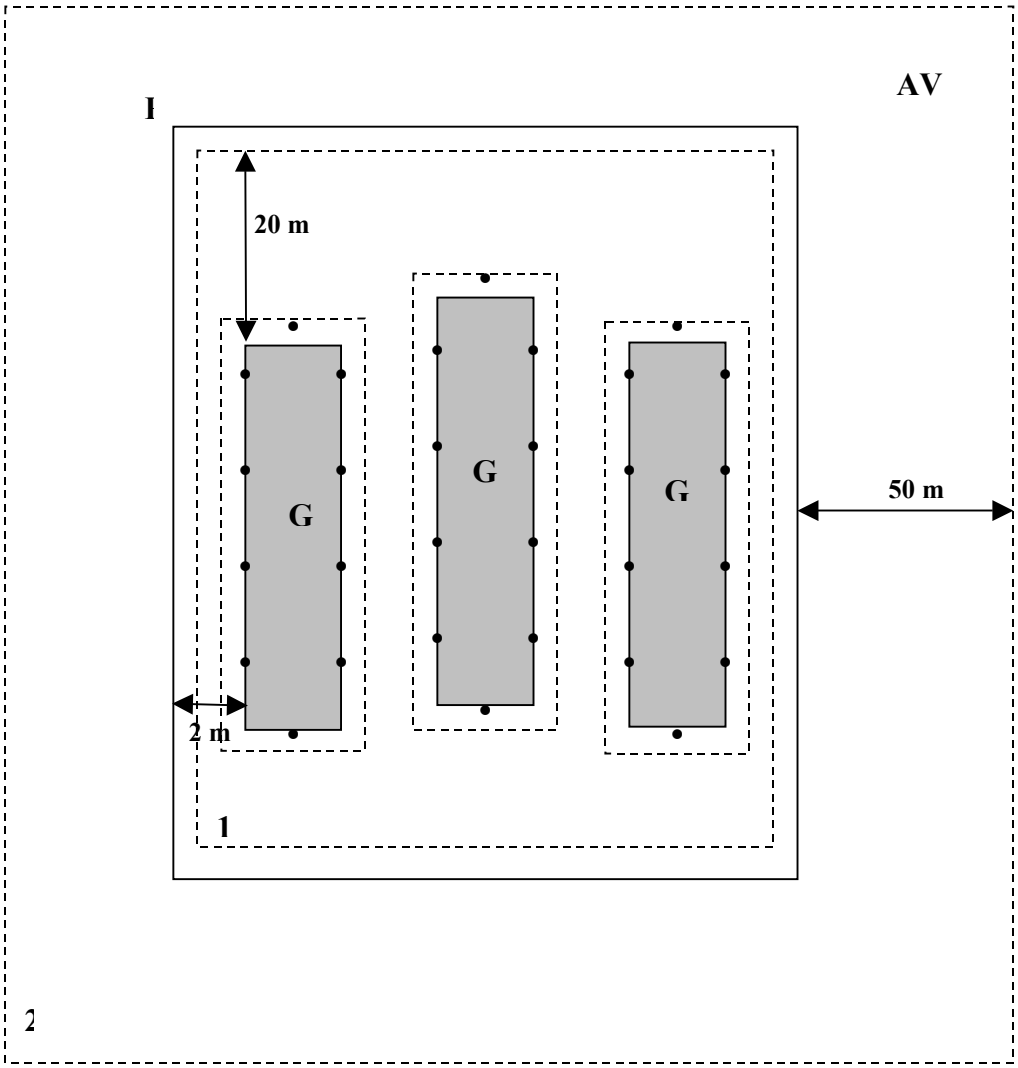

Figura 4. Esquema general de una granja avícola. Las líneas punteadas indican los sitios donde fueron colocadas las estaciones de cebado; los círculos negros indican los sitios donde se localizaron las estaciones de consumo. El tratamiento G es indicado con 1 y el tratamiento G+A es indicado con 1 y 2.

Nota: G: galpón; P: perímetro de la granja; AV: áreas vecinas.

En promedio la cantidad total de anticoagulante aplicado por granja fue de 2.43 kg para el grupo G, y 2.5 para el grupo G+A.

Las abundancias iniciales estimadas a través del porcentaje de anticoagulante consumido durante la primer semana de tratamiento no difirió entre tratamientos ni entre hábitats (*F = 2,6; p = 0,13* para tratamientos, y *F = 0,51; p = 0,49* para hábitat). La ausencia de diferencias en el consumo entre los tratamientos G y G+A en este período sugiere que la abundancia inicial de roedores fue similar en los perímetros y áreas vecinas, debido a que incluir la aplicación de anticoagulante en las áreas vecinas no alteró el porcentaje de consumo.

El porcentaje de cebos con consumo durante los primeros 20 días después de comenzado el tratamiento, fue mayor en las granjas del grupo G con respecto a las granjas del grupo G+A (*F = 5.20, p = 0.044*) y fue mayor en los galpones con respecto a los perímetros, pero estas últimas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla 7).

El porcentaje de estaciones de alimento que presentaron consumo por roedores varió entre 17.5 % y 100 %. Se observó una disminución en el consumo desde t_0 a t_1 en todas las granjas excepto en aquéllas del grupo C (Figura 5). La abundancia de roedores disminuyó desde t_1 a t_2 en todas las granjas, aunque esta disminución fue más pronunciada en los grupos G y G+A que en el grupo C (Figura 5). Desde t_2 a t_4 se observó una recuperación de la abundancia en todos los grupos, pero las granjas G y G+A no retornaron a las abundancias iniciales (Figura 5).

La mayores diferencias con respecto a las abundancias iniciales (t_0) fueron encontradas en t_2 y t_3 para las granjas G y G+A (Figura 6), pero sólo hubo un efecto significativo del tratamiento sobre la abundancia entre los tiempos t_0 y t_2 (Test de Kruskal Wallis*, H = 6,03;*

p = 0,042). De acuerdo a las Comparaciones Múltiples, el grupo C difirió significativamente de los otros dos grupos (*Z= 1,64; p=0,05*) pero los grupos G y G+A no difirieron significativamente entre ellos.

Tratamiento	**Número de cebos anticoagulantes**		**% de estaciones de alimento con consumo**	
	Habitat		Habitat	
	Galpón	*P o P+A*	*Galpón*	*P o P+A*
G	200	285	38,8	29,13
G+A	114	385	32,35	14,87

Tabla 7. Número total de cebos anticoagulantes instalados y porcentaje de cebos consumidos en galpones, perímetros (P) o perímetros y alrededores (P + A) para el tratamiento G y G+A respectivamente.

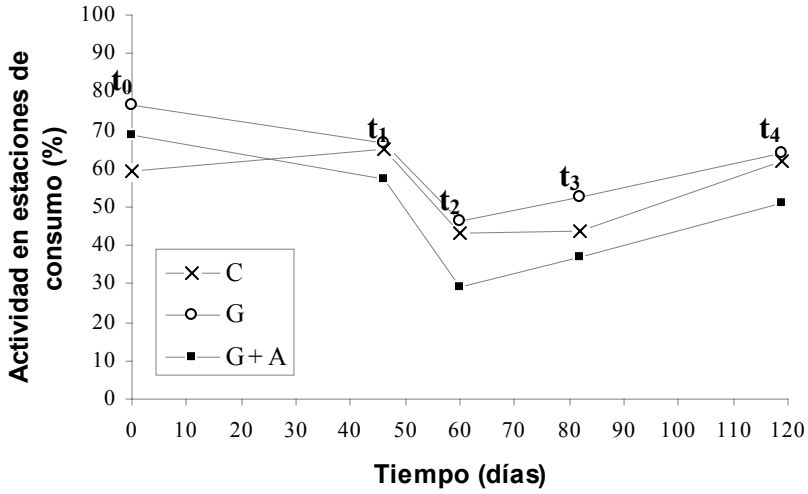

Figura 5. Cambios en el porcentaje de consumo en las estaciones de consumo para los tres grupos de granjas: C (-x-), G (-o-) and G + A (-▪-), a través del tiempo t_0: antes de la aplicación del rodenticida; t_1: al momento de retirar el rodenticida; t_2: a los 15 días; t_3: a los 30 días y t_4: a los 30 días de retirado el rodenticida. La flecha indica el momento de aplicación del rodenticida.

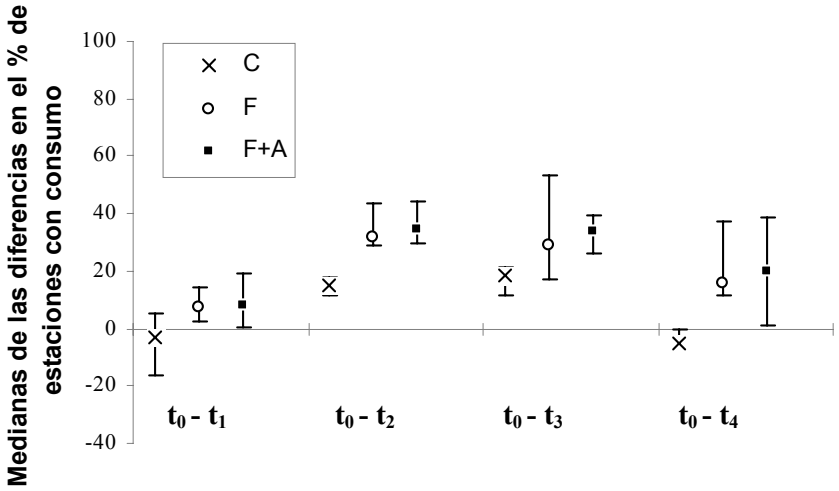

Figura 6. Medianas de las diferencias en el porcentaje de estaciones con consumo de trigo entre $t_0 - t_2$, $t_0 - t_3$ y $t_0 - t_4$ para los tres grupos de granjas C (x), G (o) y G + A (▪). Las barras de error indican el 1º y 3º cuartil.

Los resultados sugieren que la aplicación experimental del rodenticida tanto alrededor de los galpones como en los perímetros de las granjas (tratamiento G), y en un área mayor (tratamiento G+A) tuvieron un efecto significativo sobre la abundancia de roedores en los galpones de cría, pero contrariamente a lo que esperábamos, este último tratamiento no fue más efectivo que controlar sólo los perímetros de las granjas y los galpones. Por otro lado, el efecto fue significativo para ambos tratamientos sólo hasta 15 días después de haber removido el anticoagulante, y a partir de ese momento se observó la recuperación de la población de roedores alrededor de los galpones de cría.

El efecto del tratamiento G pudo haber sido la consecuencia de incrementar la cantidad de rodenticida aplicado alrededor de los galpones con respecto a la aplicación estándar realizada por los granjeros, y también debido al control realizado en los perímetros, que habría disminuido especies nativas, las cuales pueden invadir los galpones luego de la aplicación de medidas de control, ya que el control estándar sólo incluye la aplicación de rodenticida alrededor de los galpones. Con el diseño experimental realizado no es posible evaluar la importancia relativa de estos efectos, ya que no se realizó un tratamiento donde sólo se aplicara rodenticida alrededor de los galpones, y es muy difícil evaluar las cantidades aplicadas por los dueños, pero en trabajos previos (Miñarro, 2002), se observó que en ausencia de control en los perímetros la disminución en la abundancia de *M. musculus* era seguida por una invasión de especies nativas desde los perímetros hacia los galpones.

Se esperaba que las granjas donde el control se aplicó también en los alrededores mostraran una mayor disminución de la abundancia de roedores y una recuperación más lenta con respecto a las granjas donde sólo se controló en los perímetros y galpones, pero

no se encontraron diferencias significativas entre estos tratamientos, al menos para los tiempos evaluados en este estudio. Este resultado sugiere que la disminución de roedores en estos tratamientos fue debido principalmente al control de los perímetros y galpones y no a la eliminación de posibles colonizadores desde áreas más lejanas. Las áreas que rodeaban las granjas estudiadas en algunos casos eran campos dedicados a la cría de ganado (vacas y ovejas principalmente), los cuales son hábitats poco favorables para los roedores, pero las líneas de cebos de los alrededores fueron colocadas también en pastizales enmalezados, campos cultivados y corredores cubiertos por vegetación, bajo alambrados de campos y terraplenes de ferrocarril.

La recuperación observada pudo deberse a la reproducción de los individuos remanentes en los galpones de las granjas experimentales. La existencia de poblaciones residuales puede ser favorecida por la existencia de resistencia a rodenticidas, como fue registrado para *M. musculus* y *Rattus* spp en otros países (Johnson, 1988). De acuerdo a los resultados del presente experimento, estamos realizando estudios para confirmar la existencia de resistencia a bromadiolona y otros anticoagulantes en poblaciones de roedores de granjas avícolas del área de estudio (Guidobono, 2008).

La ausencia de una contribución significativa de los alrededores de las granjas sobre la recuperación de la población de roedores en los galpones (principalmente formada por *M. musculus*) es consistente con los resultados obtenidos en el Capítulo III de esta tesis (León et al., 2007), quienes observaron que la abundancia de *M. musculus* en las granjas avícolas está determinada principalmente por una dinámica *in situ,* en donde no serían tan importantes los efectos espaciales relacionados a la vecindad o a la distancia entre granjas. En el Capítulo IV observamos que las poblaciones de *M. musculus* de las distintas granjas

muestran diferenciación genética y aislamiento por distancia, mientras que los resultados de este Capítulo sugieren que el aporte de individuos desde ambientes periféricos también es escaso.

Debido a que no encontramos diferencias significativas entre las dos escalas de aplicación de control sobre la infestación por roedores en galpones, y teniendo en cuenta que al expandir las áreas tratadas se incrementa el riesgo de afectar a especies no blanco, se aconseja que la aplicación debería ser realizada solamente dentro de las granjas, pero incluyendo tanto los galpones de pollos como los alambrados perimetrales, y otros galpones y estructuras que puedan albergar a los roedores. El control de los alambrados perimetrales evitaría la invasión por especies silvestres, que pueden implicar un riesgo por transmisión de enfermedades al hombre, especialmente Fiebre Hemorrágica Argentina y Síndrome Pulmonar por Hantavirus.

Para un control exitoso de roedores en las granjas avícolas estudiadas, se propone un manejo ambiental adecuado y que la aplicación de anticoagulante se realice sistemáticamente, no sólo cuando la presencia de roedores es evidente, y por otro lado, que el tipo de cebo anticoagulante utilizado sea reemplazado periódicamente para evitar el desarrollo de poblaciones resistentes (Rowe, 1987; Singleton et al., 1999).

Incrementar el área de aplicación del rodenticida puede ser efectivo sólo si incluye sitios donde los roedores pueden ser abundantes y corredores a lo largo de los cuales puedan invadir (Endepols et al., 2003), pero esto debería ser evaluado para cada granja de acuerdo a las características de sus alrededores.

CAPÍTULO VII.

CONCLUSIONES FINALES.

Mus musculus, coincidiendo con su amplia distribución geográfica a escala mundial y en nuestro país, también muestra amplia distribución en el área de estudio. Sin embargo, si consideramos el rango de hábitats ocupados, este es muy restringido, ya que se encuentra en abundancias significativas prácticamente sólo en las granjas avícolas y algunos ambientes urbanos. Debido a la distribución espacial de los diferentes hábitats, las granjas avícolas representarían para este roedor parches favorables inmersos un una matriz de hábitats menos favorables.

Debido a las acciones de control por parte del hombre que tienden a reducir sus abundancias, la pregunta principal que motivó esta tesis fue cómo se mantiene en estos ambientes, ya que está presente en más del 95 % de las granjas. De acuerdo a los resultados del Capítulo III; la abundancia y mantenimiento de las poblaciones del roedor en cada granja depende de factores locales, y no de variables que determinan la recolonización por movimientos de individuos provenientes desde granjas vecinas u otras zonas contiguas a las mismas. Estos resultados concuerdan con los registros de movimientos mediante polvos fluorescentes, ya que no se observaron movimientos entre galpones, hacia otras zonas de las granjas, ni hacia los límites perimetrales o a los campos de cultivo o pastizales lindantes. La importancia de las condiciones locales para el mantenimiento de la especie también fue demostrada por la desaparición de *M. musculus* de una granja avícola que fue abandonada, donde se desarrolló una comunidad vegetal espontánea y fue colonizada por especies silvestres.

M. musculus mostraría una distribución restringida no sólo a escala regional, ya que dentro de los hábitats favorables (granjas) sólo se encuentra presente en algunos parches particulares, los galpones de cría de pollos y sus alrededores (Valenzuela, 2001; León et al., 2007). Las observaciones de la distribución de capturas dentro de las granjas

coinciden con la ausencia de movimientos registrados entre galpones de una misma granja (Capítulo V).

Debido a que la magnitud del intercambio de individuos entre hábitats influye sobre el grado de flujo génico, la estructuración genética de las granjas avícolas refleja el grado de interconexión entre ellas. Coincidiendo con los resultados del Capítulo III, en el Capítulo IV se observó una diferenciación genética a nivel de las granjas, que demuestra una ausencia de dispersión efectiva, es decir movimientos y reproducción reducidos entre ellas, y que dependen de la distancia a que se encuentren ubicadas. Asimismo, la diferenciación genética encontrada a nivel galpón, podría indicar nuevamente un rango pequeño de movimientos para la especie, incluso dentro de las granjas (coincidente con los rastros observados), aunque también podría ser consecuencia de restricciones sociales que impidan el apareamiento exitoso de individuos foráneos en una población establecida.

La ausencia de una contribución significativa de los alrededores de las granjas sobre la recuperación de la población de roedores en los galpones, principalmente formada por *M. musculus*, luego de la aplicación de un control (Capítulo VI), coincide nuevamente con que la abundancia de la especie en las granjas avícolas está determinada principalmente por una dinámica local, en donde no serían tan importantes los efectos espaciales relacionados a la vecindad o a la distancia entre granjas, y con la diferenciación genética y aislamiento por distancias halladas en el Capítulo IV, sugiriendo una vez más que el aporte de individuos desde ambientes periféricos es escaso.

Debido a que los resultados obtenidos indicaron que los desplazamientos de los individuos entre granjas no parecen ser un factor determinante en la abundancia y

mantenimiento de las poblaciones de *M. musculus* de las granjas avícolas del área de estudio, el mantenimiento de las poblaciones podría deberse entonces: **1-** a la recuperación a partir de los individuos que sobreviven a las medidas de control realizadas, favorecida tal vez por una respuesta densodependiente de la reproducción y por la existencia de resistencia a anticoagulantes o **2-** a la recolonización pasiva a través del hombre. Si fuera válida la segunda alternativa, no se observaría la correlación entre las distancias genéticas y geográficas (patrón de aislamiento por distancia), ya que este tipo de transporte de ratones tendería a diluir las diferencias genéticas tanto entre granjas cercanas como alejadas.

Considerando los resultados obtenidos para el diseño de medidas de control de roedores en granjas avícolas, se puede sugerir que para *M. musculus*, y a diferencia de lo observado por Gómez Villafañe et al. (2003) para ratas, el control a nivel de cada granja solamente podría ser efectivo, e incluso restringirse al área de galpones de cría. Estas medidas deberían tender principalmente a disminuir las fuentes de alimento y refugio, y no basarse exclusivamente en controles químicos. Por otro lado, Krebs (1999) consideran que las medidas más efectivas para el control de especies plaga son aquéllas que reducen la reproducción, y no las que aumentan la mortalidad. Nuestros resultados también indican que las medidas de control sólo son efectivas durante un tiempo, luego del cual se produce la recuperación, debida por un lado, a la reproducción de individuos de *M. musculus* remanentes, pero por otro lado, a especies silvestres que invaden desde los perímetros. Por lo tanto, a diferencia del control habitual de las granjas, debe tenerse en cuenta estos perímetros, manteniéndolos desmalezados y, eventualmente, aplicando anticoagulantes. La invasión de las granjas por especies silvestres representa un riesgo adicional a las posibles pérdidas económicas, ya que entre ellas se encuentran los

reservorios de los agentes patógenos de la Fiebre Hemorrágica Argentina (*Calomys musculinus*) y del Síndrome Pulmonar por Hantavirus (*Oligoryzomys flavescens*). Sin embargo, ampliar el área de aplicación a zonas más alejadas no contribuiría al éxito del control, y aumentaría lo riesgos ambientales de afectar a especies no blanco. Esto sería recomendable sólo en caso de que fueran áreas especialmente favorables.

BIBLIOGRAFÍA.

ABDELKRIM J, PASCAL M, CALMET C, SAMADI S. (2005). Importance of assessing population genetic structure before eradication of invasive species: examples from insular Norway rat populations. Conservation Biology 19: 1509 – 1518.

ALLEN PJ, AMOS W, POMEROY PP, TWISS SD. 1995. Microsatellite variation in grey seals (*Halichoerus grypus*) shows evidence of genetic differentiation between 2 British breeding colonies. Molecular Ecology 4: 653 – 662.

ANDERSON PK. 1964. Lethal alleles in *Mus musculus*: Local distribution and evidence for isolation of demes. Science 145: 177 – 178.

ANDERSON PK. 1970. Ecological structure and gene flow in small mammals. Symposia of the Zoological society of London 26: 299 – 325.

APLIN KA, SINGLETON GR. 2003. Balancing rodent management and small mammal conservation in agricultural landscapes: challenges for the present and the future. En: Singleton GR, Hinds LA, Krebs CJ, Spratt DM. (editores). Rats, Mice and People: rodent biology and management. (ACIAR). Canberra. Págs. 80 – 88.

BAKER AE. 1981. Gen flow in house mice: introduction of a new allele into free-living population. Evolution 35 (2): 243 – 258.

BAKER AE, PETRAS ML. 1986. The fate of *Mus domesticus* demes after destruction of their habitats. Biological Journal of the Linnean Society 29: 81 – 88.

BEGON M. 2006. Ecology, from individuals to ecosystem. Blackwell Publishing, London. 759 págs.

BELLOCQ MI. 1988. Dieta de *Athene cunicularia* (Aves, Strigidae) y sus variaciones estacionales en ecosistemas agrarios de la pampa argentina. Physis 46: 17 – 22.

BERRY RJ. 1986. Genetics of insular populations of mammals, with particular reference to differentiation in British small mammals. Biological Journal of the Linnean Society 28: 205 – 230.

BERRY RJ, JAKOBSON ME. 1974. Vagility and death in an island population of the house mouse. J. Zool. 173: 341 – 354.

BILENCA DN, CITTADINO EA, KRAVETZ FO. 1995. Influencia de la actividad de *Cavia aperea* sobre la estructura del hábitat y la distribución de *Akodon azarae* y *Oryzomys flavescens* (Rodentia: Caviidae, Muridae) en bordes de cultivos de la región pampeana (Argentina). Iheringia Série Zoología 79: 67 – 65.

BILENCA DN, KRAVETZ FO. 1995. Daños a maíz por roedores en la región pampeana (Argentina) y un plan para su control. Vida Silvestre Neotropical 4 (1): 51 – 57.

BILENCA DN, MIÑARRO F. 2004. Identificación de Áreas Valiosas de Pastizal en las Pampas y Campos de Argentina, Uruguay y Sur de Brasil. Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos Aires. Págs. 323

BOLETÍN EPIDEMIOLÓGICO. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. 1984. Peste: epidemiología y control. 5(6): 1 – 16.

BONAVENTURA SM, CAGNONI MC. 1995. La vegetación de los bordes de caminos en agroecosistemas. Physis 50: 63 – 71.

BOWCOCK AM, RUIZ-LINARES A, TOMFOHRDE J, MINCH E, KIDD JR, CAVALLI-SFORZA LL. 1994. High resolution of human evolutionary history trees with polymorphic microsatellites. Nature 368: 455 – 457.

BRITTON-DAVIDIAN J. 1990. Genetic differentiation in *M. m. domesticus* population from Europe, the Middle East and North Africa: geographic patterns and colonization events. Biological Journal of the Linnean Society 41: 27 – 45.

BROWN P. 2005. The effect of simulated house mouse damage to wheat in Australia. Crop Protection 24: 101 - 109.

BROWN P, SINGLETON GR. 1998. Efficacy of brodifacoum to control house mice, Mus
domesticus, in wheat crops in Southern Australia. Crop Protection 17 (4): 345 - 352.

BROWN P, SINGLETON GR. 2002. Impacts of house mice in crops in Australia – Costs and damage. En: Clark L, Hone J, Shivik JA, Watkins RA, VerCauteren KC, Yoder JK (editores). Human Conflicts with Wildlife: Economic Considerations. National Wildlife Research Centre, Fort Collins, CO. Págs. 48 - 58.

BROWN P, TUAN NP. 2005. Compensation of rodent pests after removal: control of two rats species in an irrigated farming system in the Red River Delta, Vietnam. Acta Oecologica 28: 267 - 279.

BROWN RZ. 1953. Social behaviour, reproduction and population changes in the house mouse (*Mus musculus* L.). Ecol. Monogr. 23: 217 – 240.

BUSCH M, ALVAREZ MR, CITTADINO EA, KRAVETZ FO. 1997. Habitat selection and interspecific competition in rodents in pampean agroecosystem. Mammalia 61: 167 – 184.

BUSCH M, BILENCA DN, CITTADINO EA, CUETO G. 2005. Effect of removing a dominant competitor, *Akodon azarae* (Rodentia, Sigmodontinae) on community and population parameters of small rodent species in Central Argentina. Ecología Austral 30: 168 – 178.

BUSCH M, KRAVETZ FO. 1992. Competitive interactions among rodents (*Akodon azarae, Calomys laucha, Calomys musculinus* y *Oligoryzomys flavescens*) in a two-habitats system. Spatial and numerical relationship. Mammalia 56: 45 – 46.

BUSCH M, MINO M, DADON J, HODARA K. 2001. Habitat selection by *Akodon azarae* and *Calomys laucha* (Rodentia, Muridae) in pampean agroecosystems. Mammalia, 65(1): 29 – 48.

CASE RM, JASCH BA. 1994. Pocket gophers. En: Hygnstrom SE, Timm RM, Larson GE (editores). Prevention and Control of Wildlife Damage. Universidad de California, Davis. Págs B17 – B29.

CASTILLO E, PRIOTTO J, AMBROSIO AM, PROVENSAL MC, PINI N, MORALES MA, STEINMANN A, POPLOP JJ. 2003. Comensal and wild rodents in an urban area of Argentina. International Biodeterioration & Biodegradation 52: 135 - 141.

CHAMBERS LK, SINGLETON GR, CHARLES JK. 2000. Movements and social organization of wild house mice (*Mus musculus*) in the wetlands of north-western Victoria, Australia. Journal Mammalogy 81(1): 59 – 69.

CHOQUENOT D, RUSCOE W. 2000. Mouse population eruptions in New Zealand forests: the role of population density and seedfall. The Journal of Animal Ecology 69(6): 1058 – 1070.

COCHRAN WW, LORD RD. 1963. A radio tracking system for wild animals. Journal of Wildlife Management. 27: 9 – 24.

COLLAZO R, CASTRO J. 1997. Los roedores dañinos: algunos aspectos de control químico y bacteriológico. Rev Inv Pec IVITA 8 (1): 1 – 9.

COWAN DP, QUY RJ, LAMBERT MS. 2003. Ecological perspectives on the management of commensal rodents. En: Singleton GR, Hinds LA, Krebs C, Spratt D (editores). Rats, mice and people: rodent biology and management. (ACIAR). Canberra. Págs. 433 - 439.

CRESPO JA. 1966. Ecología de una comunidad de roedores silvestres en el Partido de Rojas, Provincia de Buenos Aires. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia 1: 79 – 134.

DALLAS JF, BONHOMME F, BOURSOT P, BRITTON-DAVIDIAN J, BAUCHAU V. 1998. Population genetic structure in a Robertsonian race of house mice: evidence from microsatellite polymorphism. Heredity 80:70 – 77.

DALLAS JF, DOD B, BOURSOT P, PRAGER EM, BONHOMME F. 1995. Population subdivision and gene flow in Danish house mice. Molecular Ecology 4: 311 – 320.

DELONG KT. 1967. Population ecology of feral house mice. Ecology 48(4): 611 – 634.

DICKMAN CR, DONCASTER CP. 1987. The Ecology of Small Mammals in Urban Habitats. I. Populations in a Patchy Environment. The Journal of Animal Ecology 56 (2): 629 – 640.

DONLAN CJ, et al. 2002. Black Rat (Rattus rattus) eradication from the San Jorge Islands, Mexico. Unpublished Report. Island Conservation and Ecology Group.

DRANCOURT M, RAOULT D. 2002. Molecular insights into the history of plague. Microbes and Infection 4: 105 – 109.

DRICKAMER LC , FELDHAMER GA, MIKESIC DG, HOLMES CM . 1999. Factors affecting trappability of house mice maintained in outdoor enclosures. Journal of Mammalogy 80: 410 – 420.

DUBOCK AC. 1982. Pulsed baiting - A new technique for high potency, slow acting rodenticides. Paper presented at: Proceeding Tenth Vertebrate Pest Conference; University of Californua. USA. Págs. 123 – 135.

DUNN LC, SUCKLING J. 1956. Studies of the genetic variability in wild populations of house mice. I. Analysis of seven alleles at Locus T. Genetics 41(3):344 – 352.

ELIAS DJ. 1988. Overview of rodent problem in developing countries. FAO, Boletin fitosanitario 36: 107 - 110.

ENDEPOLS S, KLEMANN N, PELZ HJ, ZIEBELL KL. 2003. A scheme for the placement of rodenticide baits for rat eradication on confinement livestock farms. Preventive Veterinary Medicine 58: 115 - 123.

ESTOUP A, SOLIGNAC M, CORNUET JM, GOUDET J, SCHOLL A. 1996. Genetic differentiation of continental and island population of Bombus terrestris (Hymenopera *Apidae*) in Europe. Molecular Ecology 5:19 – 31.

FERNÁNDEZ MS, CAVIA R, CUETO GR, SUÁREZ OV. 2007. Implementation and Evaluation of an Integrated Program for Rodent Control in a Shantytown of Buenos Aires City, Argentina. EcoHealth 4(3): 271 – 277.

FLINT M L, DAAR S, MOLINAR R. 2003. Establishing Integrated Pest Management Policies and Programs: A Guide for Public Agencies. Universidad de Califormia. Disponible en http://anrcatalog.ucdavis.edu.

FORBES SH, HOGG JT, BUCHANAN FC, CRAWFORD AM, ALLENDORF FW.1995. Microsatellite evolution in congeneric mammals: domestic and bighorn sheep. Molecular Biology and Evolution 12 (6): 1106 – 1113.

FRENCH NR, TAGAMI TY, HAYDEN P. 1968. Dispersal in a population of desert rodents. Journal of Mammalogy 49: 272 – 280.

GÓMEZ VILLAFAÑE IE. 2003. Estudio de la Ecología y epidemiología de *Rattus* sp. en un ambiente urbano y granjas avícolas del Partido de Exaltación de la Cruz, Buenos Aires, Argentina. Tesis Doctoral de la Universidad de Buenos Aires, Argentina.

GÓMEZ VILLAFAÑE IE, BILENCA DN, CAVIA R, MIÑO MH, CITTADINO EA, BUSCH M. 2001. Environmental factors associated with rodent infestations in Argentine poultry farms. British Poultry Science 42: 300 - 307.

GÓMEZ VILLAFAÑE IE, MIÑARRO FO, RIBICICH M, ROSSETTI CA, ROSSOTTI D, BUSCH M. 2004. Assessment of the risks of rats (*Rattus Norvegicus*)

and Opossums (*Didelphis Albiventris*) in different poultry - rearing areas in Argentina. Brazilian Journal of Microbiology 35: 359 – 363.

GOTTELLI D, SILLERO-ZUBIRI C, APPLEBAUM GD, ROY MS, GIRMAN DJ, GARCIA-MORENO J, OSTRANDER EA, WAYNE RK. 1994. Molecular genetics of the most endangered canid: the Ethiopian wolf *Canis simensis*. Molecular ecology 3: 301 – 312.

GOUDET J. 2002. FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Version 2.9.3.2. Disponible en: http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html.

GUIDOBONO JS. 2008. Estudios de resistencia a anticoagulantes en poblaciones de *Mus musculus* que habitan en granjas avícolas Tesis de Licenciatura. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

HANSKI IA, GILPIN ME. 1997. Metapopulation Biology. Ecology, Genetics and Evolution. Academic Press. San Diego. 512 págs.

HAYNE DW. 1949. Calculation of size of home range. Journal of Mammalogy 30: l - l8.

HEDRICK PW. 1983. Genetics of Populations. Science Books International. USA. Págs. 629.

HON-TSEN YU, YU-HUEI PENG. 2002. Population Differentiation and gene flow revealed by microsatellite DNA markers in the house mouse (*Mus musculus castaneus*) in Taiwan. Zoological Science 19: 475 – 483.

HOOD GM. 2005. Pop Tools version 2.6.6.

JACOB J, YLÖNEN H, RUNCIE MJ, JONES DA, SINGLETON GR. 2003. What affects bait uptake by house mice in Australian grain fields? Journal of Wildlife Management 67: 341 – 351.

JIKE L, BATZLI GO, GETZ LL. 1988. Home ranges of prairie voles as determined by radiotracking and by powdertracking. Journal of Mammalogy 69(1): 183 – 186.

JOHNSON RA. 1988. Performance studies with the new anticoagulant rodenticide, flocumafen, against *Mus domesticus* and *Rattus norvegicus*. European Plant Protection Organisation. Bulletin. 18: 481 – 488.

KRAVETZ FO. 1991. Biología y control de roedores plaga en Argentina. En: Biología y control de roedores en América Latina. Informe de Países. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe.

KRAVETZ FO, DE VILLAFAÑE. 1981. Poblaciones de roedores en cultivo de maíz durante las etapas de madurez y rastrojo. Historia Natural 1 (31): 213 – 232.

KREBS C. 1999. Current paradigms of rodent population dynamics – What are we missing? En:Singleton GR, Hinds LA, Leirs H, Zhang Z. (editors). Ecologically - based rodent management. (ACIAR). Canberra. Págs. 33 – 48.

LADE JA, MURRAY ND, MARKS CA, ROBINSON NA. 1996. Microsatellite differentiation between Phillip Island and mainland Australian populations of the red fox *Vulpes vulpes*. Molecular Ecology 5: 81 – 87.

LATHAM N, MASON G. 2004. From house mouse to mouse house: the behavioural biology of free-living *Mus musculus* and its implications in the laboratory. Applied Animal Behaviour Science 86: 261 – 289.

LEMEN CA, FREEMAN PW. 1985. Tracking mammals with fluorescent pigments: A new technique. Journal of Mammalogy. 66: 134 – 136.

LEÓN V, GUIDOBONO JS, BUSCH M. 2007. Abundancia de *Mus domesticus* en granjas avícolas, efectos locales vs. efectos espaciales. Ecología Austral 17: 189-198.

LEVITAN DR, GROSBERG RK .1993. The analysis of paternity and maternity in the marine hydrozoan *Hydractinia symbiolongicarpus* using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Molecular Ecology 2:315 – 326.

LIDICKER WZ. 1976. Social behaviour and density regulation in house mice living in large enclosures. Journal of Animal Ecology 45: 677 – 697.

LOBOS G, FERRES M, PALMA RE. 2005. Presencia de los géneros invasores Mus y Rattus en áreas naturales de Chile: un riesgo ambiental y epidemiológico. Revista Chilena de Historia natural 78 (1): 113 - 124.

MACKINTOSH JH. 1981. Behaviour of the house mouse. Symposia of the Zoological Society of London 47: 337 – 365.

MANLY BF. 1997. RT a program for randomization testing. Version 2.1.

MANNING CJ, DEWSBURY DA, WAKELAND EK, POTTS WK. 1995. Communal nesting and communal nursing in house mice, *Mus musculus domesticus*. Animal Behaviour 50:741 – 51.

MASSOIA E. 1984. La importancia de los análisis de regurgitados de aves estrigiformes. ACINTACNIA, Asoc. Coop. Inst. Nac. Tecnol. Agrop. 1 (11): 38 – 39.

MILLER MP. 2000. Tools for population genetic analyses (TFPGA): a Windows program for the analyses of allozyme and molecular population genetic data, version 1.3. Disponible en: http://bioweb.usu.edu/mpmbio/tfpga.asp.

MILLS JN, ELLIS B, MCKEE K, MAIZTEGUI J, CHILDS JE. 1991. Habitat associations and relative densities of rodent population in cultivated areas of Central Argentina. Journal of Mammalogy 72: 470 – 479.

MIÑARRO FO. 2002. Evaluación experimental de métodos de ordenamiento del hábitat para el control de roedores en granjas avícolas de la Provincia de Buenos Aires. Tesis de Licenciatura, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

MIÑO MH. 2003. Caracterización de las comunidades de roedores en granjas avícolas del partido de Exaltación de la Cruz (Provincia de Buenos Aires). Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

MIÑO MH, CAVIA R, GÓMEZ VILLAFAÑE IE, BILENCA DN, BUSCH M. 2007. Seasonal abundance and distribution among habitats of small rodents on poultry farms. International journal of pest management 53 (4): 311 - 316.

MIÑO MH, CAVIA R, GÓMEZ VILLAFAÑE IE, BILENCA DN, CITTADINO EA, BUSCH M. 2001. Estructura y diversidad de dos comunidades de pequeños roedores en agroecosistemas de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Boletín de la Sociedad Biológica de Concepción, Chile 72: 67 - 75.

MORILHAT C, BERNARD N, FOLTEˆTE J, GIRAUDOUX P. 2008. Neighbourhood landscape effect on population kinetics of the fossorial water vole (*Arvicola terrestris scherman*) Landscape Ecol 23: 569 – 579.

MURPHY AS. 2005. GPS Utility versión 4.20.4.

MYERS JH. (1974). Genetic and social structure of feral house mouse populations on Grizzly Island, California. Ecology 55: 747–759.

NEI M. 1977. F statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. Annals of Human Genetics 41: 225 – 233.

NEWMAN D, NEWMAN L. 1999. Ozi Explorer version 3.85.6.2a.

NICOLAS V, COLYN M. 2007. Efficiency of fluorescent powder tracking for studying use of space by small mammals in an African rainforest. African Journal of Ecology 45(4): 577 – 580.

PANITHANARAK T, HAUFFE HC, DALLAS JF, GLOVER A, WARD RG, SEARLE JB. 2004. Linkage-dependent gene flow in a house mouse chromosomal hybrid zone. Evolution 58:184 – 192.

PARKER PG, SNOW AA, SCHUG MD, BOOTON GC, FUERSR PA. 1998. What molecules can tell us about populations: Choosing and using a molecular marker: Molecular techniques in ecology. Ecology 79 (2): 361 – 382.

PECH RP, DAVIS SA, SINGLETON GR. 2003. Outbreaks of rodents in agricultural systems: pest control problems or symptoms of dysfunctional ecosystems? En: Singleton GR, Hinds LA, Krebs C, Spratt D (editors). Rats, mice and people: rodent biology and management. Canberra. (ACIAR). Págs. 311 – 319.

PELZ HJ. 2003. Current approaches towards environmentally benign prevention of vole damage in Europe. En: Singleton GR, Hinds LA, Krebs C, Spratt D (editores). Rats, mice and people: rodent biology and management. (ACIAR). Canberra. Págs. 233 - 237.

PETRAS, ML. 1967. Studies of natural populations of Mus. Biochemical polymorphisms and their bearing on breeding structure. Evolution, 21:259-74.

PIMENTEL D, ZUNIGA R, MORRISON D. 2005. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. Ecological Economics 52: 273 - 288.

POCOCK M, HAUFFE H, SEARLE J. 2005. Dispersal in house mice. Biological Journal of the Linnean Society 84: 565 - 583.

POCOCK MJ, SEARLE JB, WHITE PC. 2004. Adaptations of animals to commensal habitats: population dynamics of house mice *Mus musculus domesticus* on farms. Journal of Animal Ecology. 73: 878 – 888.

PRATT HD, BJORNSON BF, LITTIG KS. 1979. Control of domestic rats & mice. HEWpublication (CDC): 80 - 8141.

PROVENSAL MC, CASTILLO EA, STEINMANN AR, PRIOTTO JW, POPLOP JJ. 2006. Evaluación de acciones en la ciudad de Río Cuarto, Córdoba. RAZ III (2): 58 - 64.

QUINTANILLA RH, RIZZO HF, FRAGA CP. 1973. Roedores perjudiciales para el agro en la República Argentina. EUDEBA, Buenos Aires. Págs. 110.

RAMSEY D, WILSON J. 2000. Towards ecologically based baiting strategies for rodents in agricultural systems. International Biodeterioration & Biodegradation 45: 83 – 197.

REIMER JD, PETRAS ML. 1967. Breeding structure of the house mouse *Mus musculus* in a population cage. Journal of Mammalogy 48: 88 – 99.

RICHARDS CG, BUCKLE AP. 1987. Towards integrated rodent pest management at the village level. In: Richards CG, Ku TY. (editores). Control of mammal pest. Págs. 293 – 312.

RITCHE ME. 1997. Populations in a landscape context: sources, sinks and metapopulations. En: Bissonette JA. (editor). Wildilife and Landscape Ecology. Effects of Pattern and Scale. Springer – Verlag. New York. Pág. 160.

ROBERTSON BC, GEMMEL NJ. 2004. Defining eradication units to control invasive pests. Journal of Applied Ecology 41: 1042 – 1048.

ROUSSET F, RAYMOND M. 1995. Testing heterozygote excess and deficiency. Genetics 140: 1413-1419.

ROWE FP. 1987. The control of house mouse (*Mus musculus* L.) infestation on farms. En:Richards CG, Ku TY. (editors). Control of mammal pest. Taylor & Francis. Philadelphia. Pág. 289.

RYAN A, DUKE E, FAIRLEY J. 1993. Polymorphism, localization and geographical transfer of mitochondrial DNA in *Mus musculus domesticus* (Irish house mice). Heredity 70: 75 – 81.

RYAN A, MONTGOMERY W, DUKE E. 2000. Microgeographic distribution of house mouse, *Mus domesticus*, mitochondrial DNA types on farmland in North – East Ireland. Biology and Environment 100B (3): 159 – 163.

SAAVEDRA M, AMBROSIO A, RIERA L, LEVIS S, SOTTOSANTI J, SABATTINI M. 2001. Aislamiento del virus de la coriomeningitis linfocitaria de seres humanos. Medicina (Buenos Aires) 61: 837 – 842.

SAAVEDRA M, AMBROSIO A, RIERA L, SABATTINI M. 2007. Comportamiento de cepas del virus de la coriomeningitis linfocitaria en roedores. Medicina (Buenos Aires) 67: 458 – 464.

SEIJO A. 2001. Leptospirosis, un problema de salud pública. Boletín de temas de salud. Asociación de médicos municipales de la ciudad de Buenos Aires. Medicina 63: 193 - 196.

SIEGEL S, CASTELLAN NJ. 1998. Estadística no paramétrica. Aplicada a las ciencias de la conducta. Trillas. México. Págs. 437.

SINGLETON G.R. 1983. The social and genetic structure of a natural colony of house mice, *Mus musculus*, at Healesville Wildlife Sanctuary. Australian Journal of Zoology 31: 155 – 166.

SINGLETON GR, HAY DA. 1983. The effect of social organization on reproductive success and gene flow in colonies of wild house mice, *Mus musculus*. Behavioral Ecology and Sociobiology 12: 49 – 56.

SINGLETON GR, LEIRS H, HINDS LA, ZHANG Z. 1999. Ecologically-based Management of rodent pest-Re-evaluating our approach to an old problem. In: Singleton GR, Hinds LA, Leirs H, Zhang Z, editors. Ecologically-based Rodent Management. (ACIAR). Canberra. Págs. 17 - 29.

STENSETH NC, LEIRS H, SKONHFT A, DAVIS SA, PECH RP, ANDREASSEN HP, SINGLETON GR, LIMA M, MACHANG´U RS, MAKUNDI RH, ZHANG Z, BROWN PR, SHI D, WAN X. 2003. Mice, rats and people: the bio-economics of agricultural rodent pest. Frontiers Ecology Environment 1(7): 367 - 375.

STICKEL LF. 1979. Population ecology of house mice in unstable habitats. Journal of Animal Ecology 48: 871 – 887.

SULLIVAN TP, SULLIVAN DS, HOGUE EJ. 2001. Influence of diversionary foods on vole (*Microtus montanus* and *Microtus longicaudus*) populations and feeding damage to coniferous tree seedlings. Crop Protection 20: 103 – 112.

TIMM, RM. 1994. House mice. En: Hygnstrom SE, Timm RM, Larson GE (editores). Prevention and Control of Wildlife Damage. Universidad de California, Davis. Págs. 38

TOTH G, GASPARI Z, JURKA J. 2000. Microsatellite in different eukaryotic genomes: surveys and analysis. Genome Research 10: 967 – 81.

TONGTAVEE K. 1980. Efficacy Tests of different rodenticides on some species of rats in Thailan. En: Clark JP (editor). Proceedings of the Nineteenth Vertebrate Pest Conference. Universidad de California, Davis. Págs. 143 – 145.

VALENCIA D, ELIAS D, OSPINA JA. 1994. Rodents pest in Colombian agricultural. En: Halverson WS, Crabb AC. (editores). Proceedings of the Sixteenth Vertebrate Pest Conference. Universidad de California, Davis. Págs. 92 – 94.

VALENZUELA L. 2001. Variación estacional y desplazamientos de poblaciones de pequeños roedores en dos granjas avícolas. Tesis de Licenciatura, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

VANASCO NB, SEQUEIRA MD, SEQUEIRA G, TARABLA HD. 2003. Associations between leptospiral infection and seropositivity in rodents and environmental characteristics in Argentina. Preventive Veterinary Medicine 60: 227 - 235.

VITOUSEK PM, MOONEY HA, LUBCHENCO J, MELILLO JM. 1997. Human Domination of Earth's Ecosystems. Science New Series 277 (5325): 494 – 499.

WEIR B, COCKERHAM CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38: 1358 – 1370.

WITMER G, JOJOLA S. 2006. What's up with house mice?—a review. En: Timm R, O´Brien J. (editores). Proceedings of the twenty-two Vertebrate Pest Conference. Universidad de California, Davis. Págs. 124 – 130.

WOLMAN MG. 1993. Population, land use, and environment: a long history. En: Population and land use in developing countries. Jolly CL, Boyle B. (editores) Torrey. Washington, D.C., National Academy Press. Págs. 15 – 29.

WRIGHT S. 1943. Isolation by distance. Genetics 28: 114 – 138.

WRIGHT S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. Evolution 19: 395 – 420.

WRIGHT S. 1978. Variability within and among natural populations in Evolution and the Genetics of Populations. University of Chicago Press, Chicago.

ZAR JH. 1996. Biostatistical Analysis. Prentice – Hall. USA. Págs. 613.