



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

INFLUENCIA DE ACTIVIDADES ANTROPOGÉNICAS Y
CARACTERÍSTICAS DEL PAISAJE EN LA
SEROPREVALENCIA DE *Orthopoxvirus* EN
POBLACIONES DE ARDILLA GRIS (*Sciurus aureogaster*)
DEL DISTRITO FEDERAL

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

PAOLA MARTÍNEZ DUQUE

ASESORES

DR. GERARDO SUZÁN AZPIRI
DR. RAFAEL ÁVILA FLORES
DRA. NADIA GALLARDO ROMERO



CIUDAD UNIVERSITARIA, 10 DE JUNIO DE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

La culminación de este proyecto no hubiera sido posible sin ustedes y todo lo que han representado en mi vida. Este trabajo se los dedico con toda mi gratitud y amor.

A Raúl mi papá, por creer tanto en mí y por todo su amor.

A Mary mi mamá, por todo su apoyo.

A Alejandro mi hermanito, por ser un ejemplo de perseverancia, carácter y tenacidad.

A mi gran familia: a mis abuelas, abuelos, tías, tíos, primas y primos, por todo lo que me han dado.

A mis amigos y compañeros, por estar a mi lado y ser mi fortaleza a lo largo de este proceso.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y sobre todo a mi Facultad, por ser mi segunda casa durante todos estos años.

AGRADECIMIENTOS

A Gerardo Suzán, por la oportunidad de ser tu alumna y de desarrollar este proyecto bajo tu asesoría. Gracias por la confianza, por abrirme las puertas para formar parte de tu grupo de trabajo y permitirme colaborar en tus proyectos, por transmitirme tus conocimientos y tu entusiasmo. Por enseñarnos a trabajar en equipo y que el trabajo multidisciplinario es mucho más enriquecedor, por motivarnos a seguir en el camino de la investigación recordando que no todo en la vida es ciencia. Gracias por apoyar mi desarrollo profesional y por tu amistad.

A Rafael Ávila, por la confianza que tuviste en mí para realizar este proyecto, por darme tantas ideas y apoyar mis propuestas, por todo el tiempo y la paciencia que le dedicaste a este trabajo, por guiarme siempre desde la primer salida de campo, la estadística, todos los análisis, hasta el punto final de esta tesis, sin todo tu tiempo esto no hubiera sido posible. Gracias por apoyarme y animarme siempre a dar un poco más.

A Nadia Gallardo, por permitirme desarrollar este proyecto en colaboración, por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio y enseñarme todo lo necesario, por estar dispuesta a resolver todas mis dudas siempre con buen ánimo. Gracias por confiar en mí, por abrirme las puertas de tu casa y permitirme compartir con tu familia, Andrés, Popo, Paikea, Morgui y Stich.

Al gobierno del Distrito Federal, en particular a los responsables del Área de Parques y Jardines de las delegaciones Miguel Hidalgo, Benito Juárez, Álvaro Obregón, Tlalpan y Coyoacán; por dar el apoyo y las facilidades necesarias para desarrollar esta investigación. De igual forma agradezco el apoyo a los vigilantes de las áreas verdes, así como a los vecinos y visitantes que fueron amables y se interesaron por el proyecto.

Al los miembros del Grupo de Poxvirus y Rabia del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (*CDC*), por permitirme realizar los análisis de laboratorio en sus instalaciones, por toda su amabilidad y su apoyo.

A los miembros del jurado Liliana Valdés, Rosa Elena Sarmiento, Henry Carmona, Fernando Gual y Gerardo Suzán, por el tiempo que dedicaron a la revisión de esta tesis, por sus observaciones y sus consejos.

Quiero agradecer especialmente a todas las personas que de diversas formas me apoyaron en el desarrollo del trabajo de campo, sin su tiempo, esfuerzo, dedicación, disposición, buen ánimo, compañía, consejos, sonrisas, buenas vibras, paciencia, tolerancia y más..., este trabajo no se hubiera logrado. Gracias a: Rafa Ávila, Getzemaní Cortés, Rosa Ma. Tenorio, Omar García, Oscar Rico, Alhelí Sierra, Ana Montiel, Gerardo Suzán, David

Martínez, Gaby Aguilar, Shiara González, Rubén Galicia, Kari Flores, Loreto Gómez, María M. Valbuena, Oriol Jornet, Juan Cortés, Liliana Suárez, Rodrigo González, Enrique, Chucho Sotomayor, Karina, Lety de la Rosa, Adriana Fernández, Octavio López, Martha Albarrán, Ulises Bautista, María José Núñez, Juan Fernández, Carmen Valle, Hugo Rivera, Diego Méndez, Rubén Sánchez, Alejandro Martínez, Silvia Duque, Raúl Martínez, Maricela Duque, Ana Ma. Martínez, Pilar Martínez.... Gracias por ser parte de esto.

A Lucía Amendola por tu apoyo en la revisión de esta tesis, especialmente por tu orientación en el análisis estadístico, muchas gracias por toda tu disposición y buen ánimo.

A Heliot Zarza por el apoyo y orientación para el diseño del mapa.

A Raúl por el apoyo, la confianza, la comprensión y la libertad que me has dado y que me han permitido cumplir esta meta y hacer todo lo que amo. Por acompañarme a los parques y ser tan paciente conmigo, simplemente por ser y estar. Gracias por creer en mí y por todo tu amor papá.

A Mary, por el apoyo de distintas formas, por su fuerte carácter que me ha impulsado a luchar por lo que quiero. Por acompañarme a los parques y preocuparte por mí. Gracias por todo Mamá.

A Alejandro, por ser siempre tan crítico conmigo y con mis decisiones, por tu fuerza, tu apoyo, por impulsarme siempre a seguir adelante y superarme. Por acompañarme a los muestreos y molestarme tanto para que terminara pronto esto. Gracias hermanito.

A todos los miembros de mi gran familia; a mis abuelas, abuelos, tías, tíos, primas y primos. Por su apoyo, comprensión, cariño y motivación. En especial a mis primos por enseñarme a ver la vida con humor.

A Tania y a Daniela, por su tiempo, sus consejos, su apoyo y su cariño.

A mis muy queridos amigos y hermanos Ulises, Beto, Alhelí, Fabb, Vero, Diana, Ro, Mar, gracias por compartir el camino conmigo.

A mis amigos y compañeros del grupo de Ecología de Enfermedades; muy en especial a Ana Laura, Liliana, Omar, Juanito, Chucho, Rafa O, Oscar, Carinthia, Shiara, Moni, Octavio, André, Adriana, Karen, Ana M. y María José.

A todas las personas que fueron parte del proyecto y/o me acompañaron en algún momento del proceso.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y al Departamento de Etología Fauna Silvestre y Animales de Laboratorio, por absolutamente todo.

RESUMEN	- 1 -
1. INTRODUCCIÓN	- 2 -
2. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES	- 9 -
3. OBJETIVOS	- 11 -
3.1. OBJETIVO GENERAL	- 11 -
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	- 11 -
4. MATERIAL Y MÉTODOS	- 12 -
4.1. ÁREA DE ESTUDIO	- 12 -
4.3. CAPTURA DE INDIVIDUOS Y TOMA DE MUESTRAS	- 13 -
4.4. ANÁLISIS DE LABORATORIO	- 15 -
4.4.1. Inmunoensayo enzimático (ELISA)	- 15 -
4.4.2. Extracción de material genético (DNA)	- 19 -
4.4.3. Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (PCR)	- 20 -
4.5. ATRIBUTOS DEL PAISAJE	- 21 -
4.6. IMPACTO ANTROPOGÉNICO	- 23 -
4.7. ATRIBUTOS POBLACIONALES	- 24 -
4.8. ATRIBUTOS INDIVIDUALES	- 26 -
4.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	- 27 -
5. RESULTADOS	- 29 -
5.1. ÉXITO DE CAPTURA	- 29 -
5.2. SEROPREVALENCIA	- 29 -
5.3. EVIDENCIA MOLECULAR	- 29 -
5.4. ATRIBUTOS DEL PAISAJE	- 30 -
5.5. IMPACTO ANTROPOGÉNICO	- 31 -
5.6. ATRIBUTOS POBLACIONALES	- 32 -
5.7. ATRIBUTOS INDIVIDUALES	- 32 -
6. DISCUSIÓN	- 35 -
7. CONCLUSIONES	- 43 -
8. LITERATURA CITADA	- 45 -
APÉNDICE I	- 56 -
APÉNDICE II	- 63 -

RESUMEN

MARTÍNEZ DUQUE PAOLA. Influencia de actividades antropogénicas y características del paisaje en la seroprevalencia de *Orthopoxvirus* en poblaciones de ardilla gris (*Sciurus aureogaster*) del Distrito Federal. (Bajo la dirección de: Dr. Gerardo Suzán Azpiri, Dr. Rafael Ávila Flores y MVZ Nadia Gallardo Romero).

Palabras clave: *Orthopoxvirus*, roedor, ardilla gris, ELISA, poxvirus, paisaje, actividades antropogénicas.

Diferentes virus del género *Orthopox* (OPXV) han sido aislados de roedores en diversas partes del mundo. Aunque en las últimas décadas se ha documentado la presencia de virus endémicos de este género en diversas especies silvestres en Norteamérica, muchos aspectos de su ecología, distribución geográfica y diversidad de hospederos permanecen desconocidos. Los roedores de la familia Sciuridae han sido asociados a brotes de poxvirus incluidos virus del género OPXV, lo que ha tenido fuertes implicaciones en la conservación de especies silvestres y en salud pública. La ardilla gris (*Sciurus aureogaster*) es un roedor que se ha adaptado exitosamente a ambientes perturbados como la Cd. de México, en donde convive estrechamente con el humano, lo que la convierte en una especie ideal para evaluar los efectos de la urbanización en la dinámica de las enfermedades en poblaciones silvestres y sus implicaciones para la salud pública. Los objetivos de este trabajo fueron monitorear la presencia de anticuerpos contra OPXV en suero de ardilla gris del D. F. y analizar la influencia de variables asociadas a atributos del paisaje, actividades antropogénicas, atributos poblacionales y atributos individuales en la seroprevalencia del virus. De febrero a junio de 2011 se colectaron muestras de suero, hisopados orales y costras de 366 ardillas en 18 áreas verdes del D.F. Se realizó la prueba de ELISA de tipo indirecto para OPXV empleando como antígeno el virus *Volepox*. Se consideraron positivos los sueros que en una dilución 1:50 mostraron una densidad óptica mayor al punto de corte establecido por placa. Se realizó PCR en tiempo real a partir de hisopados orales y costras; para buscar evidencia molecular del virus. Se midieron variables relacionadas a actividades antropogénicas, atributos del paisaje, atributos poblacionales e individuales. A partir de esta información se construyeron modelos lineales generalizados para explicar la variación de la seroprevalencia de OPXV. La seroprevalencia total fue del 30%, aunque no se encontró evidencia molecular del virus. El modelo construido a partir de atributos del paisaje explicó mejor la variación en la seroprevalencia, siendo la distancia a la población de ardillas más cercana la única variable significativa ($p=0.014$), lo que indicó que las poblaciones más aisladas presentaron seroprevalencias más bajas. El índice corporal fue marginalmente significativo ($p=0.09$), lo que sugirió que las ardillas con condición corporal más baja tienen mayor probabilidad de ser seropositivas. El resto de las variables evaluadas no explicaron satisfactoriamente los resultados. Los datos registrados evidencian que las ardillas grises de la Cd. de México, han estado en contacto con un OPXV y que existe cierta asociación entre atributos del paisaje y atributos individuales con la seroprevalencia del virus.

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de las sociedades modernas ha ocasionado la transformación de los ecosistemas. ⁽¹⁻⁴⁾ Los tres principales procesos asociados a estas transformaciones son: 1) destrucción o pérdida de hábitat, proceso en el que se pierde completamente el hábitat original, ^(5,6) 2) fragmentación de hábitat, proceso en el cuál una larga extensión de hábitat se transforma en pequeños parches de vegetación nativa, aislados entre sí por una matriz distinta al hábitat natural; ^(3,7) y 3) perturbación de hábitat, suceso discreto que altera la estructura de un ecosistema, población o comunidad, modificando la disponibilidad de recursos. ^(8,9)

La transformación de los ecosistemas afecta directamente al ambiente, los procesos ecológicos y la vida de los organismos, debido al cambio en las condiciones físicas ambientales, la pérdida de biodiversidad y otras alteraciones que surgen como consecuencia del impacto antropogénico. ⁽¹⁻⁴⁾ El caso más extremo de transformación de los ecosistemas se presenta en los ambientes urbanos, ^(10,11) en donde es común encontrar remanentes de hábitat o parches de vegetación generalmente muy perturbada que varían en forma, dimensión, grado de aislamiento y conectividad. Estos parches se encuentran rodeados por una matriz formada por estructuras de diversos materiales como concreto, madera o pavimento, ⁽¹²⁾ que resulta hostil para la mayor parte de las especies nativas. ^(10,11)

Las consecuencias ecológicas resultantes del proceso de urbanización involucran cambios en la interacción parásito-hospedero, ⁽¹³⁾ como resultado de alteraciones individuales y poblacionales asociadas a cambios en la estructura del paisaje, calidad del

hábitat, atributos de la matriz, capacidad de carga local, interacciones intra e interespecífica y factores causantes de estrés. ⁽¹⁴⁻¹⁷⁾

Los cambios en la estructura del paisaje alteran la composición de la comunidad faunística original; en ambientes urbanos donde los parches de vegetación se encuentran rodeados por estructuras asociadas a la actividad humana se ve favorecida la entrada y el establecimiento de especies generalistas y exóticas, sucediendo lo opuesto con las especies nativas. ⁽¹³⁾ Estos cambios en conjunto favorecen la emergencia y reemergencia de enfermedades ⁽¹⁸⁻²⁰⁾ por factores predisponentes como aumento en el área de contacto entre fauna silvestre y animales domésticos, el intercambio de patógenos entre especies ⁽²¹⁻²³⁾ y el aumento en la tasa de encuentro entre individuos.

La configuración de los parches o fragmentos de hábitat (dimensión, forma, grado de aislamiento y conectividad), influye en características poblacionales de parásitos y hospederos. El tamaño del fragmento puede afectar la densidad de una población y la tasa de encuentro entre los individuos que lo habitan. En muchas especies, los fragmentos pequeños favorecen altas densidades poblacionales y el aumento en la tasa de encuentro entre individuos, características correlacionadas positivamente con la intensidad de una infección o con el número de parásitos por hospedero. ^(25,26) La conectividad y el aislamiento de los fragmentos determinan las tasas de intercambio de individuos entre parches; estudios teóricos y empíricos han sugerido que en fragmentos interconectados se incrementa la dispersión de enfermedades al aumentar el intercambio de individuos y el transporte de patógenos entre fragmentos. ^(2,27) Por otro lado, en los fragmentos pequeños y aislados disminuye la variabilidad genética, evento que conduce a las poblaciones a

presentar mayor susceptibilidad a enfermedades al reducir la adaptabilidad a presiones selectivas, como son las enfermedades. ⁽²⁸⁾

La modificación del paisaje y la influencia directa de las actividades antropogénicas, además de alterar las interacciones ecológicas, alteran la homeostasis de los individuos residentes, al enfrentarlos a factores como la contaminación, ⁽²⁹⁾ la presencia recurrente de humanos y el cambio en la disponibilidad de recursos. ^(13,30) Se ha demostrado que individuos de poblaciones silvestres en ambientes naturales entran en estado de estrés como respuesta al aumento en la presencia de humanos dentro de su hábitat; lo que promueve el aumento en las conductas agresivas y la liberación prolongada y continua de glucocorticoides. ⁽³¹⁾ Estas hormonas influyen negativamente en la respuesta inmune, al reducir la producción de linfocitos T, células centrales en la regulación y el funcionamiento del sistema inmune, lo que trae consecuencias como el aumento en la susceptibilidad a enfermedades, poniendo en riesgo la sobrevivencia de los individuos. ⁽³²⁻⁴¹⁾

El estudio de enfermedades infecciosas en poblaciones silvestres, además de evaluar variables externas relacionadas con la calidad del hábitat y las características del paisaje, también debe tomar en cuenta el monitoreo de variables intrínsecas de los individuos que intervienen en la susceptibilidad a patógenos, como son: el sexo, la edad, el estado fisiológico y la condición corporal. ⁽³⁵⁾ Estas características influyen en la dinámica de las enfermedades dentro de una población debido a que algunos patógenos tienden a afectar a miembros de una población que comparten ciertas características. ⁽⁴²⁾ Incluso se ha sugerido que las tendencias de mortalidad por sexo y grupos de edad (en poblaciones que enfrentan brotes de alguna enfermedad) intervienen en la evolución de la resistencia a patógenos y en la disminución de la inmunidad de poblaciones enteras. ⁽⁴³⁾

En los centros urbanos la presencia de especies silvestres de hábitos generalistas, altamente tolerantes a la presencia de humanos, constituye un riesgo potencial en la transmisión de patógenos zoonóticos. ⁽⁴⁴⁾ Entre los mamíferos silvestres que habitan ambientes urbanos de todo el mundo, las ardillas (Rodentia: Sciuridae) son quizá el grupo que guarda mayor cercanía y contacto físico con el hombre; gracias a esta estrecha relación, es importante conocer el estado de salud de este grupo, debido a las implicaciones que puede tener en temas de salud pública y en la conservación de especies nativas que permanecen en parches de hábitat rodeados por una matriz impactada por actividades humanas.

En la actualidad los patógenos emergentes que más se reportan asociados a cambios ambientales son los virus, que se han vuelto relevantes debido a su alto impacto en la conservación de especies silvestres, la salud pública y la economía a nivel mundial. ⁽⁴⁵⁾ En las últimas décadas se han reportado diversos agentes virales en ardillas silvestres de distintas partes del mundo, como el *Virus del Oeste del Nilo* en ardilla zorro (*Sciurus niger*) de Estados Unidos, ⁽⁴⁶⁾ *Adenovirus* y *Rotavirus* en ardilla roja (*Sciurus vulgaris*) de Inglaterra y Alemania, ^(47,48) y se han reconocido algunos virus de la familia *Poxviridae*, ⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾ como el *Leporipoxvirus* causante de fibromas en ardillas (*Sciurus carolinensis* y *Tamiasciurus hudsonicus*) y el *Squirrelpoxvirus* en ardilla gris (*Sciurus carolinensis*) y ardilla roja (*Sciurus vulgaris*) en algunas regiones de Europa. ^(52,53)

La familia *Poxviridae* está compuesta por virus DNA, complejos y de gran tamaño que se replican en el citoplasma celular de vertebrados (*Chordopoxvirinae*) e invertebrados (*Entomopoxvirinae*). ^(54,55) La subfamilia *Chordopoxvirinae* se divide en ocho géneros (Apéndice I; Cuadro 1), algunos de los cuales son relevantes en temas de salud pública

pues infectan exclusivamente al humano (*Molluscipox* y *Variola*) y otros son de tipo zoonótico (*Monkeypox* y *Cowpox*).^(56,57) A nivel económico son de gran importancia pues en varias regiones del mundo un alto número de especies animales utilizadas con fines zootécnicos padecen enfermedades producidas por esta familia viral (*Camelpox*, *Ectromelia*, *Orf* y *Myxoma*).⁽⁵⁴⁾

Dentro de la subfamilia *Chordopoxvirinae* se encuentra el género *Orthopoxvirus* (OPXV), cuyas especies se pueden clasificar según su distribución geográfica en OPXV del Viejo Mundo (*Variola*, *Cowpox*, *Monkeypox*, etc.)⁽⁵⁵⁾ y OPXV del Nuevo Mundo o norteamericanos (*Raccoonpox*, *Skunkpox* y *Volepox*).⁽⁵⁸⁾ Los OPXV de origen norteamericano fueron descritos en los años 60's y 80's a partir de aislamientos de mamíferos silvestres en Estados Unidos y Canadá.^(59,60) Sin embargo se desconoce su rango de distribución geográfica, la diversidad de hospederos y su papel como agentes etiológicos de enfermedades zoonóticas. En los últimos años se ha demostrado que este grupo es monofilético con respecto a los OPXV de origen euroasiático, pero son el grupo más divergente de entre los OPXV descritos y el que menos ha sido estudiado hasta el momento.⁽⁵⁸⁾

En la actualidad el estudio de enfermedades causadas por virus de la familia *Poxviridae* en poblaciones silvestres, se realiza en regiones del mundo en donde los brotes epidémicos han tenido importantes repercusiones en la salud pública o han puesto en riesgo la conservación de especies silvestres. Estas investigaciones han revelado que los roedores son un grupo importante para el mantenimiento y transmisión de estos patógenos.^(54, 61, 100)

Se ha comprobado la presencia en Norteamérica de OPXV endémicos; ^(58,61) sin embargo hasta el momento no existe información sobre la presencia de estos patógenos en México. Aunque el estudio de enfermedades virales en roedores silvestres de México ha aumentado en los últimos años, la información referente a roedores de la familia Sciuridae es limitada. El monitoreo de enfermedades en estas especies es importante ya que por sus características y hábitos, han logrado coexistir estrechamente con el humano en ambientes altamente perturbados.

En la Ciudad de México habita la ardilla gris *Sciurus aureogaster* (Apéndice I; Cuadro 2), especie nativa del centro del país que se distribuye desde Nuevo León y el norte de Tamaulipas, hasta Tabasco por el Golfo de México, y desde Nayarit hasta Chiapas por el Pacífico (Apéndice I; Figura 1a y 1b). ^(62,63) Es diurna y de hábitos generalistas, por lo que ha logrado adaptarse exitosamente a distintos tipos de hábitat. ^(64,65) En la zona urbana de la Cuenca de México, la ardilla gris (*Sciurus aureogaster*) es probablemente la especie de mamífero nativo no volador más común, y aunque su presencia en el Área Metropolitana de la Ciudad de México enriquece el valor estético y ecológico de las áreas verdes, la simpatía que provoca en muchos residentes incrementa los riesgos de contacto con el humano.

Las características biológicas, la capacidad de adaptación a ambientes urbanos y la estrecha relación con la población humana, hacen de la ardilla gris un modelo ideal para evaluar el impacto de la urbanización en las poblaciones de especies silvestres, así como los riesgos y las implicaciones para la salud pública por transmisión de agentes zoonóticos.

La Ciudad de México, uno de los centros urbanos más grandes y poblados del mundo, constituye un modelo interesante para evaluar el impacto de niveles extremos de

fragmentación, perturbación y pérdida de hábitat en la dinámica de las enfermedades en poblaciones silvestres. Estas características aunadas a la fuerte asociación que existe entre roedores silvestres y los OPXV, establecen un escenario ideal para monitorear la presencia de este patógeno en la ardilla gris, roedor silvestre cuya presencia es ubicua en esta región de México.

Los objetivos de este trabajo son: 1) identificar la presencia de anticuerpos contra OPXV en muestras de suero de poblaciones de ardilla gris (*Sciurus aureogaster*) que habitan áreas verdes del Distrito Federal; y 2) evaluar la relación entre la seroprevalencia y la configuración del paisaje, el impacto antropogénico y los atributos poblacionales e individuales.

Esta investigación aportará valiosa información por ser el primer estudio en el que se monitorea la presencia de OPXV en roedores silvestres de México. La información obtenida será útil para el establecimiento de programas de vigilancia epidemiológica que apoyen la conservación de especies nativas y que aborden temas de salud pública, además de servir como base para el desarrollo de programas de monitoreo de enfermedades en poblaciones silvestres que estén en estrecho contacto con poblaciones humanas.

2. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

- La configuración del paisaje influye en la seroprevalencia de OPXV en poblaciones de ardilla gris, al alterar los patrones de movimiento y las tasas de contacto entre individuos.
 - Los parches de hábitat mejor conectados presentarán mayor seroprevalencia de OPXV que los parches más aislados.
 - Los parches de hábitat de menor tamaño presentarán mayor seroprevalencia de OPXV.
 - Los parches de hábitat rodeados por una matriz de baja calidad presentarán mayor seroprevalencia de OPXV.
- El impacto de las actividades antropogénicas (presencia de humanos, suplementación alimenticia y presencia de perros domésticos), influye en la seroprevalencia de OPXV al someter a los individuos a distintos grados de estrés ambiental.
 - Las poblaciones que habitan parches con mayor frecuencia de visitantes, presentarán mayor seroprevalencia de OPXV.
 - Las poblaciones que reciban suplementación alimenticia, presentarán mayor seroprevalencia de OPXV.
 - Las poblaciones que habitan parches con mayor presencia de perros domésticos, presentarán mayor seroprevalencia de OPXV.
- La densidad y el tamaño poblacional influyen en la seroprevalencia de OPXV al aumentar la tasa de contacto entre individuos.
 - Parques con mayor densidad y tamaño poblacional presentarán mayor seroprevalencia de OPXV.

- Los atributos individuales influyen en la seroprevalencia de *OPXV*, al modificar la resistencia al patógeno y disminuir o aumentar los recursos invertidos en el sistema inmunológico.
 - La seroprevalencia de *OPXV* será mayor entre individuos activos reproductivamente.
 - La seroprevalencia de *OPXV* será mayor entre individuos con pobre condición e índice corporal.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Detectar la presencia de OPXV en poblaciones de ardilla gris del Distrito Federal y analizar la relación de la seroprevalencia con la configuración del paisaje, actividades antropogénicas, atributos individuales y atributos poblacionales

3.2. Objetivos específicos

- Cuantificar la seroprevalencia de OPXV en poblaciones de ardilla gris del Distrito Federal.
- Analizar la relación entre la configuración del paisaje y la seroprevalencia de OPXV.
- Analizar la relación entre el impacto antropogénico (presencia de humanos, suplementación alimenticia y presencia de animales domésticos) y la seroprevalencia de OPXV.
- Analizar la relación entre los atributos poblacionales (densidad y tamaño poblacional) y la seroprevalencia de OPXV.
- Analizar la relación entre los atributos individuales (edad, sexo, condición corporal, índice corporal y estado reproductivo) y la seroprevalencia de OPXV.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio

El Distrito Federal se ubica al centro de la República Mexicana, abarca una superficie de 1,479km², se encuentra a 2200m sobre el nivel del mar y posee climas que varían desde templado hasta frío húmedo. En la zona urbana el clima es templado con una temperatura media de 16°C, siendo la temperatura máxima superior a 28°C y la mínima de 6°C en la zona centro. ⁽⁶⁶⁾ Dentro de esta entidad se localiza la Ciudad de México, uno de los centros urbanos más grandes del mundo. El Área Metropolitana de la Ciudad de México, que incluye los municipios conurbados del Estado de México, es habitada por más de 20 millones de personas y es el centro político, económico y social más importante del país. ⁽⁶⁷⁾

El rápido crecimiento de la mancha urbana ha puesto en peligro los ecosistemas que existen en el valle de México, modificando la estructura de las comunidades de flora y fauna nativa de la región. Actualmente las áreas verdes de la zona urbana del D.F., abarcan tan solo el 21% del territorio y están representadas por bosques, reservas, parques, camellones, glorietas, barrancas y jardines privados (Apéndice I; Figura 2). ⁽⁶⁸⁾ En estas áreas verdes, particularmente en aquellas ubicadas en la periferia, habita una gran variedad de especies de fauna silvestre nativa. Se han registrado alrededor de 380 especies de vertebrados, ⁽⁶⁹⁾ como tlacuache (*Didelphis virginiana*), cacomixtle (*Bassariscus astutus*), ardilla gris (*Sciurus aureogaster*), ^(70,71) gorrión serrano (*Xenospiza baileyi*), ⁽⁷²⁾ entre otras.

4.2. Diseño de muestreo

Esta investigación fue un estudio ecológico de tipo observacional y transversal. Los resultados obtenidos fueron analizados con un enfoque correlativo.

Se identificaron áreas verdes localizadas en la zona sur y oeste del Distrito Federal, posteriormente se realizaron recorridos para identificar poblaciones de ardilla gris (*Sciurus aureogaster*). Bajo criterios de tipo logístico (accesibilidad, seguridad, obtención de permisos, etc.), se seleccionaron 18 áreas verdes como puntos de monitoreo, ubicadas dentro de la matriz urbana en las delegaciones Miguel Hidalgo, Álvaro Obregón, Benito Juárez, Tlalpan y Coyoacán (Apéndice I; Cuadro 3 y Figura 3). Para la selección de sitios se tomaron en cuenta características como la dimensión, la conectividad entre sitios y el grado de impacto antropogénico; tratando de maximizar la variación de estas características.

4.3. Captura de individuos y toma de muestras

La colecta de muestras e información se realizó de febrero a junio de 2011. De acuerdo a las características del hábitat y al tamaño de cada área verde seleccionada, se establecieron entre 1 y 6 cuadrantes (c) alejados entre sí por al menos 100 m de distancia. El número de cuadrantes se estableció categorizando la superficie arbolada de las áreas verdes de la siguiente manera: 0-5 ha = 1 c 5-20 ha = 2 c 20-100ha = 3 c >100 ha = 6 c. Con dos excepciones, el Parque Ecológico el Batán, que por su forma se consideró conveniente establecer dos cuadrantes en los puntos más alejados entre sí; y el Bosque de Tlalpan, que a pesar de tener poco más de 100 h de superficie arbolada sólo tenía tres puntos habitados por

ardillas (de acuerdo con nuestras visitas preliminares). En cada cuadrante se colocaron 9 trampas para captura de mamíferos medianos tipo Tomahawk (No.201de 41x13x13 cm), teniendo áreas verdes con mínimo 9 trampas y áreas verdes con máximo 54 trampas activas por día (Apéndice I; Cuadro 4). Las trampas fueron distribuidas al azar, al pie de árboles maduros, fueron cebadas con una mezcla de avena rolada, crema de cacahuete y esencia de vainilla y permanecieron activas de 9:00 am a 5:00 pm, durante tres días consecutivos por área verde de monitoreo.

Los individuos capturados fueron colocados en sacos de tela cónicos para facilitar el manejo y la toma de muestras; no fue necesario implementar ningún protocolo de anestesia. La piel de cada espécimen fue revisada y en caso de detectar alguna costra, ésta fue colectada con pinzas de disección y almacenada en viales de plástico sin medio de transporte; posteriormente se colectaron hisopados orales que fueron almacenados en viales de plástico sin medio de transporte. A continuación se colectaron muestras de sangre, empleando la técnica de punción del seno orbital, como lo permite la NOM-062-ZOO-1999. ⁽⁷³⁾ La muestra fue tomada con tubos capilares con heparina mediante goteo, colectando una muestra de 100 a 200 µl de sangre completa por individuo que fue almacenada en viales de plástico sin anticoagulante ni medio de transporte. Las muestras colectadas fueron mantenidas en refrigeración hasta su almacenamiento en el Departamento de Etología Fauna Silvestre y Animales de Laboratorio de la FMVZ, UNAM. Las muestras de sangre completa fueron centrifugadas a 1,500 x g durante 10 minutos, se separó el suero del paquete celular y se almacenó en viales de plástico, recuperando un volumen final de 30 µl de suero por individuo. Finalmente todas las muestras colectadas (sueros, costras e hisopados orales) se mantuvieron en congelación hasta su procesamiento en el laboratorio.

A cada individuo capturado se le asignó un número de registro, se tomaron medidas morfométricas (longitud de cuerpo, longitud de cola, longitud total, longitud de pata derecha, longitud de oreja derecha y peso), se registró sexo, edad (adulto o juvenil), estado reproductivo, condición corporal, sitio y fecha de captura; se marcaron con aretes numerados y fueron liberados en el sitio de captura.

4.4. Análisis de laboratorio

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Centro de Control y Prevención de Enfermedades, *CDC* por sus siglas en inglés (*Centers for Disease Control and Prevention*) en Atlanta, Georgia, EUA.

Para la detección de anticuerpos contra poxvirus del género OPXV a partir de muestras de suero, se realizó la prueba serológica de inmunoensayo enzimático ELISA, por sus siglas en inglés (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*), de tipo indirecto. Para la detección de fragmentos de material genético correspondientes a poxvirus del género OPXV, a partir de hisopados orales y costras, se realizó la técnica molecular de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, PCR por sus siglas en inglés (*Polymerase Chain Reaction*).

4.4.1. Inmunoensayo enzimático (ELISA)

Se realizó la técnica de ELISA indirecta, para detección de inmunoglobulinas contra OPXV descrita por Karem *et al.*, 2005. ^(61,74) Se sabe que existe reacción cruzada entre los miembros del mismo género, por lo que se empleó como antígeno el virus *Volepox*, OPXV endémico de América. ⁽⁵⁸⁾

Para la fase sólida de la prueba se sensibilizaron las placas para ELISA (Thermo Labsystems, part #3455), empleando el virus *Volepox* (VPXV 6.8×10^8 UFP/ml) y el lisado celular (BSC-40; Línea celular de riñón de mono verde) como antígeno. Estos fueron descongelados y sonicados 3 veces por minuto (40% de amplitud y 160 watts); entre cada sonicación fueron colocados en hielo durante 20 segundos. En la campana de bioseguridad se realizó una dilución 1:50 del virus y del lisado celular en solución Buffer carbonatada (mezcla de una cápsula de carbonato-bicarbonato Sigma C3041 más 100ml de agua destilada).

Se calculó la dilución 1:50 de virus y lisado celular necesaria para 48 pozos, con la fórmula:

$$C1*VI=C2*V2$$

En dónde:

$C1$ = Concentración de virus que se tiene VI = Volumen de virus que se tiene

$C2$ = Concentración de virus requerida $V2$ = Volumen de virus requerido

Lo ideal:

$$1.23 \times 10^7 \text{ UFP/placa} = 10 \text{ ml}$$

$$VI = \frac{1.23 \times 10^6 * 1 \text{ ml}}{6.8 \times 10^8}$$

$$VI = 0.090 \text{ } \mu\text{g de VPXV por 1 ml.}$$

Lo real:

$$VI = 1 \text{ ml} \quad C1 = 6.8 \times 10^8$$

$$V2 = 50 \text{ ml} \quad C2 = 1.36 \times 10^7$$

- Se necesita 1.1 µg de virus por pozo ∴ para preparar 50 000 µl de dilución de virus y de lisado celular 1:50, se necesitaron:

1000 µl de VPXV o Lisado celular + 49000 µl de buffer.

- Se requirieron 5 ml de dilución 1:50 de virus + 5 ml de dilución 1:50 de lisado celular por placa.

En la campana de bioseguridad, se agregaron 100 µl de dilución de virus en cada pozo de las columnas 1 a 6 y 100 µl de dilución de lisado celular para cada pozo de las columnas 7 a 12. Las placas fueron selladas con películas adhesivas (Falcon #3073) y se incubaron una noche a 4 °C. Al día siguiente, en la campana de bioseguridad se eliminó el exceso de la dilución de las placas, golpeándolas con un movimiento rápido en una toalla desechable, sobre la mesa. A todos los pozos se les agregó 100 µl de formalina para inactivar al virus, se cubrieron con películas adhesivas y se incubaron por 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se vació la formalina y se bloquearon los pozos con 100 µl de solución buffer de bloqueo (Usando PBS 0.01 M, pH 7.4 + 0.05 % de Tween 20, 5% de leche descremada y deshidratada, 2% de albumina de suero bovino y 2% de suero de cabra), se sellaron y dejaron incubar por una hora a temperatura ambiente.

Se prepararon 450 µl de una dilución 1:50 de las muestras de suero y de los sueros controles (positivo y negativo), empleando el buffer de bloqueo como diluyente (441 µl de buffer de bloqueo + 9 µl de suero para 4 pozos). Las placas fueron lavadas tres veces en un lavador de placas, empleando el programa 05 IgG con 1x PBST. Se agregaron 100 µl de dilución 1:50 de suero por pozo (en duplicado para virus y lisado celular), se sellaron y se

incubaron a 37 °C por una hora. Posteriormente fueron lavadas nuevamente tres veces en el lavador de placas. Se corrieron 21 muestras en duplicado, 2 controles positivos y un control negativo por placa. Como controles se empleó suero de conejo positivo y negativo al virus *Vaccinia*.

Se preparó una dilución a 1:30, 000 del conjugado A/G (Pierce ImmunoPure® Proteína A/G/ Conjugado con Peroxidasa, # 32490). Se agregaron 100 µl de dilución de conjugado en cada pozo, las placas fueron selladas e incubadas a 37 °C por una hora y finalmente fueron lavadas tres veces en el lavador de placas. Como enzima marcadora se empleó una solución de sustrato de peroxidasa de rábano (KPL #50-76-05), agregándose 100 µl de esta solución a cada pozo y se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos. Posteriormente se empleó como cromógeno TMB 3-3'- tetrametilbenzidina (Stop Solution KPL #50-85-05), agregándose 100 µ por pozo, para detener la quimioluminiscencia y amplificar la señal. Para finalizar la prueba, se realizó la lectura de densidad óptica de cada placa en un espectrofotómetro a 450 nm (SpectraMAX 190).^(74, 75)

Para determinar el punto de corte de cada placa, se calculó el promedio de densidad óptica de todos los pozos con lisado celular y el promedio de los pozos por duplicado de cada muestra. Al promedio de cada muestra se le restó el promedio de los pozos con lisado celular por placa más tres desviaciones estándar. Por medio de esta normalización cualquier valor con resultado mayor al punto de corte de cada placa se consideró positivo.^(56,61,74,75)

A partir de estos datos se calculó la seroprevalencia por sitio de muestreo, dividiendo el número de individuos positivos entre el total de individuos muestreados.

Para fines de esta investigación se definió como seroprevalencia a la proporción de individuos que presentaron anticuerpos contra OPXV en suero en el momento de la extracción de sangre, sobre el total de la población estudiada. ⁽⁷⁶⁾

4.4.2. Extracción de material genético (DNA)

Para la extracción de DNA a partir de los hisopados orales se agregaron 400 µl de PBS (Phosphate Buffered Saline) en el vial que contenía el hisopo y se dejó reposar durante cinco minutos. Posteriormente se transfirieron los hisopos y el remanente a viales de plástico para la extracción del sobrenadante de los hisopados (Swab Extraction Tube System, Roche, Catalog No. 3315568), en donde fueron centrifugados a 3341 x g durante un minuto para extraer el sobrenadante y desechar el hisopo. Se transfirieron 100 µl de la dilución a un vial del kit de extracción (Qiagen EZ1 DNA Tissue Kit, Catalog No. 953034) y se almacenó el resto de la dilución a -204 °C. Se agregaron 90 µl de Buffer G2 (Qiagen) y 10 µl de proteinasa K y fueron mezclados. Se inactivó el virus incubando la mezcla en baño maría a 56 °C por al menos una hora y posteriormente se centrifugó a 13,362 x g durante 30 segundos para colectar el material condensado en la tapa del tubo. Finalmente la extracción de DNA se llevó a cabo en la máquina de extracción de material genético Qiagen Bio Robot EZ1 siguiendo las recomendaciones de la compañía.

Para la extracción de DNA a partir de muestras de costras, se colocó la muestra en un vial que contenía 1 ml de PBS y un balín estéril de acero inoxidable. Con ayuda del homogenizador (SPEX bead beater) se maceró la muestra durante 2 minutos a baja velocidad, seguido de 2 minutos a alta velocidad. Se alicuotaron 100 µl del macerado en un vial de 1.5 ml (Qiagen EZ1 DNA Tissue Kit). El resto se almacenó a -20 °C.

Posteriormente se agregaron 90 µl de Buffer G2 (Qiagen) y 10 µl de proteinasa K y fueron mezclados, se procedió a la inactivación en baño maría como se mencionó en el párrafo anterior y se corrió la muestra en el robot para la extracción de DNA, hasta obtener una mezcla homogénea. ⁽⁷⁷⁾

4.4.3. Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (PCR)

Se realizó la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real descrita por Gallardo-Romero *et al.*, 2011. ⁽⁷⁷⁾ Esta prueba se basó en el uso de tecnología TaqMan®, usando el alineamiento de los genes 086 para el virus *Volepox*, 086 para el virus *Skunkpox* y el gen 070 del virus *Raccoonpox*, los cuales son los homólogos del gen G9R del virus *Vaccinia* (Copenhague). Este gen codifica para la proteína miristilada de los *Orthopoxvirus*, la cual es un componente esencial para la fusión celular y la entrada del virus a la célula. ⁽⁷⁸⁾

Los iniciadores G9R-NA OPXV *forward* (5'YGG-ACC-RGG-AGG-TCT-TTCTGC-ATT 3'), G9R-NA OPXV *reverse* (5'TCT-GGCCAA-CAT-GAT-TCT-AAT-ACT-GCR-TC 3'), y sonda (5'FAM AG-GGA-ACG-VTAYAA-TGG-YAC-YGC-TCC-CAA-YTG-CTG-TCGCAC-TTT-BHQ1 3'), fueron diseñados para amplificar un fragmento de 156 pb (pares de bases) de una región altamente conservada del gen.

El ensayo fue realizado en un volumen final de 25 µl de mezcla amortiguadora por pocillo. Esta mezcla se conformó de 12.5 µl de solución amortiguadora Taq Man® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystem, New Jersey, USA), 4.5 µl de agua destilada desionizada, 1 µl de cada iniciador *forward* y *reverse* (concentración – 20 µM), 1µl de sonda (concentración 10 µM) y 5µl de muestra de DNA.

La amplificación de DNA se llevó a cabo usando las condiciones térmicas normalmente utilizadas o predeterminadas para la detección de OPXV en el PCR ABI7900 (Applied Biosystem, Foster City, Ca). Un ciclo de 95 °C por 10 minutos para desnaturalizar, seguido de 40 ciclos de amplificación; 95 °C por 15 segundos y 60 °C por un minuto. La amplificación del PCR se basa en la emisión fluorescente posterior a la hibridación y elongación del DNA a 60 °C.

4.5. Atributos del paisaje

Se identificaron atributos del paisaje que potencialmente tuvieran influencia en el tamaño y la dinámica poblacional de las ardillas y se seleccionaron variables que describieran estas características. Los valores fueron calculados con apoyo de mapas digitales, imágenes de satélite y los programas computacionales Google Earth Pro 6.2 y Arc View GIS 3.2.

Los atributos seleccionados fueron clasificados en tres categorías: a) Superficie de hábitat disponible, b) Conectividad y aislamiento entre poblaciones, c) Impacto antropogénico y calidad de la matriz que rodea al hábitat.

a) Superficie de hábitat disponible

Área arbolada.— La ardilla gris es una especie de hábitos arborícolas, por lo tanto para establecer la extensión potencialmente ocupada por esta especie, se determinó la superficie arbolada por sitio. Esta variable se calculó trazando un polígono sobre la superficie arbolada de cada parque tomando como referencia imágenes de satélite y herramientas del software Google Earth Pro 6.2.

b) Conectividad y aislamiento entre poblaciones

Poblaciones a menos de 500 y 1000m. – Para determinar la conectividad entre poblaciones se trazaron buffers o cinturones de 500 y 1000 m de ancho, a partir del borde de cada área verde y se contabilizó el número de parques vecinos con poblaciones de ardillas dentro de ellos. Esta variable se calculó con herramientas e imágenes de satélite del software Google Earth Pro 6.2 y los registros previos de áreas verdes habitadas por ardillas.

Población más cercana. – Para determinar el grado de aislamiento de cada población, se midió la distancia de cada área verde monitoreada a la población vecina más cercana. Esta variable se calculó con las herramientas e imágenes de satélite del software Google Earth Pro 6.2 y los registros previos de áreas verdes con ardillas.

c) Impacto antropogénico y calidad de la matriz de paisaje

Perímetro del fragmento (efecto de borde).– Para determinar el efecto de la yuxtaposición entre el hábitat de las ardillas (superficie arbolada) y la matriz que lo rodea, se trazó un polígono alrededor de la superficie arbolada por sitio y se calculó el perímetro con apoyo de herramientas e imágenes del software Google Earth Pro 6.2. De este modo entre mayor sea el perímetro del polígono, menor será la superficie de hábitat influenciada por la matriz y viceversa. ^(79,80)

Índice de forma. – Mide el grado de complejidad de la forma del fragmento de hábitat, en comparación con una circunferencia. Entre mayor sea el índice, mayor será la complejidad de la forma, aumentando la superficie de hábitat susceptible a la influencia de la matriz. ⁽⁸¹⁾ Este índice se calculó con la fórmula: $SI = P_i / 200[(fA_i)^{0.5}]$

En dónde:

SI = Índice de forma

$$f = 3.1416$$

P_i = Perímetro del fragmento (m)

A_i = Área del fragmento (m²)

Densidad de calles y porcentaje de área arbolada dentro de 500 y 1000 m.— Con la finalidad de describir la calidad de la matriz, se trazó un área de amortiguamiento de 500 y 1000 m de distancia a partir del borde de cada área verde, en el que se calculó la densidad de calles (m/ha) y el porcentaje de superficie arbolada alrededor de cada parque. Estas variables fueron calculadas tomando como referencia mapas del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) y herramientas del software Arc View 3.2.

4.6. Impacto antropogénico

Durante los monitoreos, se registró información asociada a actividades humanas que influyen directamente en el comportamiento y los hábitos de las ardillas. Las variables consideradas fueron grado de tolerancia al humano, ocurrencia de suplementación alimenticia por parte de los visitantes, número de visitantes por minuto y número de perros por minuto. Estos datos únicamente fueron tomados de lunes a viernes, para evitar el sesgo que representa la afluencia de visitantes durante los fines de semana.

Grado de tolerancia al humano. — Se estableció una escala relativa del 1 al 3, en donde 1- no tolerantes, 2 - poco tolerantes y 3- muy tolerantes.

Suplementación alimenticia. – Se identificaron los sitios en donde los visitantes proporcionaban alimento a las ardillas de forma directa o en comederos. Se registró la ausencia o presencia de este evento.

Número de visitantes por minuto. – Durante dos días consecutivos se registró el número de personas que cruzaban los transectos previamente seleccionados para estimar la densidad poblacional de ardillas (Ver punto 4.7). El conteo de visitantes se realizó en periodos de dos minutos cada 15 minutos entre las 07:00 y 09:00 am, acumulando 18 conteos por transecto y un total de 36 minutos de registros. Posteriormente se sumó el número de individuos registrados en todos los conteos y se dividió entre 36. El registro de visitantes sólo se realizó de lunes a viernes para evitar el sesgo que representa realizar conteos en fines de semana cuando la afluencia de visitantes aumenta.

Frecuencia de perros por minuto. – Durante dos días consecutivos se registró el número de perros domésticos y ferales que cruzaban los transectos previamente seleccionados para evaluar la densidad poblacional de ardillas (Ver punto 4.7). El conteo de perros se realizó en periodos de dos minutos cada 15 minutos entre las 07:00 y 09:00 am, acumulando 18 conteos por transecto y un total de 36 minutos de registros. Posteriormente se sumó el número de perros registrados en todos los conteos y se dividió entre 36. El muestreo se realizó de lunes a viernes.

4.7. Atributos poblacionales

Densidad poblacional. – Se realizaron conteos visuales en transectos para estimar la densidad poblacional de ardillas en cada área verde. Cada transecto tuvo una longitud (l) de 100 m y el número de transectos por área verde se estableció en función de su superficie del mismo modo que el número de cuadrantes (Apéndice I; Cuadro 4). Los conteos se

realizaron cada 15 min de las 7:00 a las 9:00 am, recorriendo lentamente el transecto y registrando cada individuo observado, así como la distancia en línea recta del observador a la ardilla. Se realizaron dos días de conteo por parque, acumulando un total de dieciocho conteos por transecto. Por cada transecto se estableció un ancho de detectabilidad o cinturón de visibilidad (w), que fue la distancia perpendicular al transecto hasta donde se asumía que la probabilidad de detección de ardillas era igual o mayor a uno. Los valores se estandarizaron en 10, 15 y 20 m, dependiendo de las características del transecto (densidad de árboles y arbustos, cobertura del dosel, presencia de construcciones, etc.)

Para calcular el área efectiva de detectabilidad (D) por transecto se empleó la siguiente fórmula:⁽⁸²⁾

$$D = (2) (w) (l)$$

En donde:

D = Área efectiva de detectabilidad

w = Cinturón de visibilidad

l = Largo del transecto en m

Para estimar la densidad poblacional se utilizaron únicamente los registros de individuos observados dentro del área de detectabilidad de cada transecto. El máximo número de individuos registrados en alguno de los dieciocho conteos podría representar el número de ardillas presentes por transecto. Sin embargo, este dato podría sobreestimar el número de ardillas si éste se registró durante la formación de congregaciones temporales de individuos por situaciones como la presencia de alimento suplementado. Por lo tanto, se tomaron en cuenta los nueve conteos con el mayor número de ardillas registradas para reducir la sobreestimación resultante de este tipo de eventos.

Finalmente la densidad poblacional se calculó dividiendo el promedio de individuos de nueve conteos, entre el área efectiva de detectabilidad transformada a hectáreas. En las áreas verdes con dos o más transectos se calculó la densidad promedio del número total de transectos.

Tamaño poblacional. – Se calculó multiplicando la densidad poblacional por el área arbolada de cada parque.

4.8. Atributos individuales

Los individuos capturados fueron revisados y clasificados de acuerdo a los siguientes atributos individuales:

Edad. – Se establecieron dos grupos de edad: adultos y juveniles. Se consideraron adultos los individuos mayores de 190 g o con características que indicaran actividad reproductiva.

Sexo. – Se determinó mediante la revisión de órganos sexuales externos.

Estado reproductivo. – Se establecieron dos grupos: activos e inactivos. Se consideraron activos los machos con testículos escrotados y las hembras lactantes, gestantes y poslactantes. ⁽⁸³⁾

Condición corporal. – Se estableció un parámetro del 1 al 3: 1) pérdida de masa corporal, 2) las costillas se palpan fácilmente y no hay grasa al tacto, y 3) exceso de grasa corporal.

Índice corporal. – Se calculó dividiendo el peso (g), entre el largo del cuerpo de la punta de la nariz a la base de la cola (mm).⁽⁸⁴⁾

4.9. Análisis estadísticos

La información obtenida se analizó con un enfoque correlativo por medio de modelos lineales generalizados GLMs, por sus siglas en inglés (*Generalized Linear Model*),⁽⁶⁶⁾ con apoyo del paquete estadístico SPSS Statistics 20. Este análisis se realizó para determinar el efecto combinado de múltiples variables explicativas (numéricas y categóricas), en la seroprevalencia de OPXV en poblaciones de ardilla gris.

Se construyeron tres modelos que emplearon como unidad de análisis los sitios monitoreados ($n=18$). La variable dependiente fue la seroprevalencia por sitio y las variables independientes fueron las relacionadas con 1) características del paisaje, 2) impacto antropogénico y 3) atributos poblacionales. Se construyó una matriz de correlación para eliminar aquellas variables explicativas que estuvieran altamente correlacionadas ($p < 0.05$; Apéndice II, Cuadro 1), y se aplicó la prueba de Shapiro-Wilkins a la variable dependiente para determinar si su distribución difería de manera significativa de una distribución normal ($p < 0.05$).⁽⁸⁵⁾ Debido a que los datos fueron continuos con errores normales, estos modelos se construyeron seleccionando la función de distribución de errores “*normal*” cuya función canónica de enlace es “*identidad*”.⁽⁸⁶⁾

Se realizó un cuarto modelo que empleó sólo a los individuos de los que se registraron todos los atributos individuales (edad, sexo, estado reproductivo, índice corporal y condición corporal) como unidad de análisis ($n=347$). La variable dependiente fue la seropositividad por individuo (1=positivo, 0=negativo), y las variables independientes

fueron sexo, edad, estado reproductivo, condición corporal e índice corporal. Para la construcción de este modelo, debido a que los datos se presentan con valores binarios (0 y 1) con errores binomiales, se utilizó la función de distribución de errores “*binomial*” cuya función canónica de enlace es “*logit*”.⁽⁸⁶⁾

Los criterios empleados para la evaluación de los modelos fueron devianza, pseudo- R^2 y Criterio de Información de Akaike para muestras finitas AIC_c , por sus siglas en inglés (*Akaike Information Criterion*). La devianza se empleó para determinar la variación de los datos que no fue explicada por cada modelo. La pseudo- R^2 se calculó para determinar la proporción total de devianza explicada por el modelo; para obtener este valor se realizó un modelo nulo a cuya devianza se le restó la devianza residual de cada modelo, el resultado se dividió entre la devianza del modelo nulo. El AIC_c se empleó para hacer una comparación entre modelos, siendo el mejor modelo aquel que resultó con el menor valor.⁽⁸⁶⁾

Se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov a los valores de índice corporal para determinar su tipo de distribución,⁽⁸⁵⁾ el resultado demostró que no existe diferencia significativa con respecto a una distribución normal ($p > 0.05$), por lo tanto se realizó la prueba de t para dos muestras con el paquete estadístico SPSS 2.0, con la finalidad de comparar la media del índice corporal de los individuos seropositivos con la media de los individuos seronegativos.

5. RESULTADOS

5.1. Éxito de captura

Se capturaron en total 389 individuos en las 18 áreas verdes monitoreadas. El promedio de capturas fue de 22 individuos por sitio; los sitios con mayor éxito de captura fueron el Bosque de Chapultepec (1ª sección), Viveros de Coyoacán y Bosque de Tlalpan, con 64, 49 y 39 individuos respectivamente, mientras que los sitios con menor éxito fueron Glorieta América y Plaza de la Conchita con 11 individuos cada uno (Apéndice II, Cuadro 2).

5.2. Seroprevalencia

De los 389 individuos capturados se obtuvieron 366 muestras de suero. Los resultados a la prueba de ELISA demostraron una seroprevalencia total de anticuerpos contra OPXV del 30% (110/366). Las áreas verdes con menor seropositividad fueron el Parque Lincoln (0%, n=13), el Parque Ecológico el Batán (7.7%, n=13) y el Bosque de Chapultepec (9.6%, n=62; Apéndice II, Cuadro 3).

5.3. Evidencia molecular

Se realizó el procedimiento para extracción de material genético (DNA) a 366 muestras de saliva y 56 costras. La muestra de DNA fue empleada para realizar PCR en tiempo real, los resultados obtenidos fueron negativos a material genético de OPXV.

5.4. Atributos del Paisaje

Las áreas verdes con mayor superficie de área arbolada, hábitat adecuado para la ardilla gris, fueron el Bosque de Chapultepec (146 ha) y el Bosque de Tlalpan (102 ha). Las áreas verdes con menor superficie de hábitat fueron el Jardín Hidalgo (0.58 ha), el Parque Margait (0.85 ha) y la Plaza de la Conchita (0.85 ha).

El Parque Masayoshi Ohira tuvo el parche de hábitat más cercano (3.6 m), sin embargo no se consideró como una población de ardillas distinta, pues las copas de los arboles entre sitios están en contacto, lo que sugiere que la misma población de ardillas habita ambos parches, aun cuando a nivel de suelo los parches estén separados por bardas o alambrados. En este supuesto, la Plaza de la Conchita tuvo la población vecina más cercana a 15.8 m y un alto grado de conectividad con cuatro poblaciones a 500 m y seis a 1000 m. El Parque Lincoln fue el sitio con mayor número de poblaciones cercanas, con cinco a menos de 500 m y siete a menos de 1000 m, aunque la población más cercana se registró a 307 m. La población más aislada fue la del Parque Francisco Villa, con tan sólo una población a menos de 1000 m a la redonda.

El perímetro de los sitios monitoreados osciló entre 562 m y 10 817 m; el índice de forma promedio fue de 2.11. El sitio con menor exposición relativa al efecto de borde fue el Bosque de Tlalpan (10 817 m) y la superficie de hábitat susceptible a la influencia de la matriz fue moderada, con un índice de forma de 2.1. El sitio con mayor exposición relativa al efecto de borde fue la Plaza de la Conchita (562 m), con una superficie de hábitat susceptible moderada cuyo índice de forma fue de 1.7. Los sitios con menor superficie de hábitat susceptible a la matriz de acuerdo con el índice de forma de los fragmentos, fueron

el Bosque de Chapultepec, el Parque Xicoténcatl y los Viveros de Coyoacán con un índice de forma de 1.3, mientras que el sitio con mayor susceptibilidad fue el Jardín Botánico con un índice de 3. Cabe aclarar, sin embargo, que el Jardín Botánico está rodeado en su mayoría por un matorral seminatural, por lo que la matriz está poco urbanizada.

Los sitios con menor calidad en la matriz de hábitat para las ardillas, en un área de amortiguamiento de 500 y 1000 m fueron los parques Luis G. Urbina, Francisco Villa y San Lorenzo, con una densidad de calles de aproximadamente 200 m/ha. El sitio con mejor calidad en la matriz de hábitat para las ardillas en un área de amortiguamiento de 500 m y 1000 m, fue el Jardín Botánico con 65.5% y 53.8% de superficie arbolada respectivamente (Apéndice II, Cuadro 4).

5.5. Impacto antropogénico

De las dieciocho poblaciones monitoreadas, ocho se mostraron habituadas y altamente tolerantes a la presencia humana, cinco fueron parcialmente tolerantes y el resto se mostraron poco o nada tolerantes. En catorce de los dieciocho sitios se registraron eventos de suplementación alimenticia directa o en comederos; en el Jardín Botánico, Museo de las Intervenciones, Parque Ecológico el Batán y la Plaza de la Conchita, no se registró ningún evento de esta naturaleza.

El sitio con menos número de visitantes fue el Parque Ecológico el Batán con 0.14 visitantes por minuto, seguido del Parque Tagle, el Jardín Botánico y el Parque Margait con alrededor de un visitante por minuto, el sitio más visitado fue el Jardín Hidalgo con 5.6 visitantes por minuto. Los sitios con mayor registro de perros por minuto fueron los parques Francisco Villa, Luis G. Urbina, Lincoln, San Lorenzo y la Plaza de la Conchita,

con alrededor de un registro de perros por minuto, en el Jardín Botánico, Bosque de Chapultepec, Viveros de Coyoacán y el Parque el Ecológico Batán no se tuvieron registros (Apéndice II Cuadro 5).

5.6. Atributos poblacionales

Los sitios con mayor densidad poblacional fueron el Parque San Lorenzo y los Viveros de Coyoacán, con 29 y 46 individuos por hectárea respectivamente; el sitio menos densamente poblado fue el Parque Lincoln con 1.6 individuos por hectárea. El sitio con el mayor tamaño poblacional estimado fue el Bosque de Tlalpan con 3057 individuos, mientras que el sitio con menor tamaño poblacional estimado fue el Parque Margait con alrededor de 3 individuos (Apéndice II, Cuadro 6). Aunque el método de estimación poblacional utilizado nos permitió comparar de manera sistematizada los atributos poblacionales entre parques, resulta evidente que éste no refleja de manera fiel el tamaño real de las poblaciones; por ejemplo, en el Parque Margait se capturaron 13 individuos mientras los conteos visuales indicaron un tamaño poblacional de 3 individuos.

5.7. Atributos individuales

Del total de individuos evaluados por atributo, el 80% fueron adultos y el 20% juveniles. La proporción de sexos fue de 41% hembras y 59% machos. Con respecto al estado reproductivo el 70% fueron activos y el 30% inactivos. En relación a características morfométricas promedio, la longitud de cuerpo (*mm*) fue de 238 ± 9.48 , el peso (*g*) de 466 ± 32.5 y el índice corporal de 1.95 ± 0.1 . El 3% de individuos tuvieron condición corporal tipo 1, el 83% tipo 2 y el 14% tipo 3 (Apéndice II, Cuadro 2).

5.8. Análisis estadísticos

Para la construcción de los MLG's se eliminaron las variables altamente correlacionadas, por lo tanto los modelos se construyeron a partir de las siguientes variables:

- 1) *Atributos del paisaje*: Área arbolada, número de parques en 500 m, distancia al parque más cercano, densidad de calles en 500 m e índice de forma.
- 2) *Impacto antropogénico*: Grado de tolerancia al humano, ocurrencia de suplementación alimenticia, número de visitantes por minuto y número de perros por minuto.
- 3) *Atributos poblacionales*: Densidad poblacional
- 4) *Atributos individuales*: Edad, sexo, estado reproductivo e índice corporal.

Los resultados obtenidos sugieren que las variables asociadas a atributos del paisaje tienen mayor influencia en la seroprevalencia de anticuerpos contra OPXV. Este modelo explicó el 46% de la variación, proporción más alta que la explicada por los modelos asociados a actividades antropogénicas y características de la población. De acuerdo con los valores de AICc, el modelo más parsimonioso fue el construido a partir de variables relacionadas con atributos poblacionales (Apéndice II, Cuadro 7).

De acuerdo con el modelo construido a partir de atributos del paisaje, la distancia al parque más cercano fue la variable que resultó más significativa, guardando una relación negativa con relación a la seroprevalencia a OPXV ($p=0.014$; Apéndice II, Figura 1), de tal forma que entre mayor sea la distancia entre parques, menor será la seroprevalencia. El

resto de las variables consideradas no explicaron de manera satisfactoria la seroprevalencia de OPXV en ardillas del Distrito Federal (Apéndice II, Cuadro 8).

El modelo construido a partir de variables de impacto antropogénico, no demostró ninguna asociación estadísticamente significativa entre las variables consideradas y la seroprevalencia de OPXV en ardillas gris (Apéndice II, Cuadro 9). El modelo construido a partir de atributos de la población sólo incluyó la variable “densidad poblacional”, ya que la variable “tamaño poblacional” estuvo altamente correlacionada; esta variable no explicó satisfactoriamente la seroprevalencia de OPXV en ardilla gris (Apéndice II, Cuadro 10).

En el modelo construido a partir de atributos individuales, ninguna de las variables fue estadísticamente significativa; el índice corporal fue marginalmente significativo ($p=0.09$) con una asociación negativa, de tal forma que a menor índice corporal, mayor probabilidad de ser seropositivo a OPXV (Apéndice II, Cuadro 11). De acuerdo con la prueba de Levene para la igualdad de varianzas, no existió diferencia significativa en la varianza de índice corporal entre individuos seropositivos y seronegativos, por lo tanto se analizaron los datos con la prueba de “*t*” para varianzas iguales. Los resultados de esta prueba demostraron que no existe diferencia estadísticamente significativa ($p=0.305$) entre la media del índice corporal entre individuos seropositivos e individuos seronegativos (Apéndice II, Cuadro 12; Figura 2).

6. DISCUSIÓN

En la actualidad existen pocas publicaciones sobre la ardilla gris (*Sciurus aureogaster*), en las cuales se describen algunos de sus hábitos y características biológicas. ^(62,65,87-94) El estudio de este roedor en el D.F. se ha enfocado principalmente en la descripción de su hábitat, ^(71,95) algunos atributos reproductivos⁽⁹⁶⁾ y los daños que ocasionan en algunas áreas verdes dentro de la ciudad.⁽⁹⁷⁾ Estas investigaciones se han realizado principalmente en el Bosque de Chapultepec y en los Viveros de Coyoacán, en donde las poblaciones están bien establecidas y han logrado explotar exitosamente los recursos disponibles, además de interactuar estrechamente con los visitantes de estos sitios.

La información sobre el estado de salud de la ardilla gris en la Ciudad de México es limitada, los registros disponibles hacen referencia a colecta de muestras de manera incidental durante estudios dirigidos a otras especies, mostrando escasos resultados relacionados con este roedor. ⁽²⁰⁾ La carencia de información abarca desconocimiento en cuestiones relacionadas con el papel que juegan en la dinámica de enfermedades, el estado de conservación de la especie en la ciudad y el efecto de la perturbación de hábitat en el estado físico de los individuos.

Esta investigación es el primer estudio enfocado en monitorear una enfermedad infecciosa en poblaciones de ardillas del D.F. Los resultados obtenidos en la prueba serológica realizada (ELISA), demostraron evidencia de circulación de anticuerpos contra OPXV en muestras de suero de ardillas de diecisiete de los dieciocho parques evaluados, siendo este el primer reporte de OPXV en mamíferos silvestres de toda la República Mexicana. La seroprevalencia total obtenida fue del 30% (110/366), que es un valor similar

al reportado en monitoreos realizados en roedores silvestres de distintas partes del mundo para anticuerpos contra virus de la familia *Poxviridae* (entre el 10 y el 40%).⁽⁹⁸⁻¹⁰⁰⁾

Los resultados obtenidos demuestran que las ardillas del D.F. han estado en contacto con un OPXV y han montado respuesta inmunológica. El antígeno específico de cada género de poxvirus puede generar reacción cruzada en la prueba de ELISA, lo que impide confirmar la identidad de la variante de OPXV a la que han estado expuestas. Sin embargo, una vez que un individuo ha sido infectado y ha montado respuesta inmune humoral a una infección por OPXV, las inmunoglobulinas (IgG) estarán presentes en suero y proporcionarán protección cruzada a otros miembros del género y mostrarán evidencia de una exposición previa a algún OPXV.^(58,74,75,100)

La probabilidad de que la variante de OPXV a la que han estado expuestas las ardillas pertenezca a una cepa endémica de Norteamérica es alta, dado que el antígeno empleado fue el virus *Volepox*, variante que ha sido aislada de mamíferos silvestres de Estados Unidos y Canadá.^(54,58,61,77) Esto no pudo confirmarse pues no se registró evidencia molecular en el ensayo de PCR. La ausencia de evidencia molecular puede deberse a que los individuos muestreados se encontraban clínicamente sanos y sin evidencia de procesos infecciosos recientes. Las investigaciones previas en donde se ha encontrado evidencia molecular de poxvirus, han analizado muestras (sueros, órganos, secreciones, etc.) provenientes de individuos que han cruzado por procesos infecciosos agudos, que en la mayoría de los casos los han llevado a la muerte^(52,59,60,101) Por otro lado, la poca información existente sobre la ecología de los OPXV en Norteamérica también sugiere que existen otras variantes de este género viral circulando en el continente, que no han sido descritas.

Los aislamientos de OPXV en animales silvestres sugieren que los mamíferos son el grupo taxonómico más cercano a este género. Se cree que algunos OPXV, por ejemplo *Volepox* y *Cowpox*, ocasionan procesos infecciosos sutiles en roedores, sugiriendo que la relación “virus- hospedero” ocasiona una respuesta a la infección mínima o asintomática. Esta característica y el alto grado de similitud genética entre los OPXV sugieren que los roedores podrían representar el reservorio ecológico primario de algunos miembros del género viral que no han sido descritos. ^(58, 102)

La ardilla gris es una especie ubicua en la Ciudad de México que posee una fuerte capacidad de adaptación a la perturbación del hábitat, logrando explotar exitosamente los recursos que áreas verdes urbanas le ofrecen y ocupando parches de hábitat variados que incluyen glorietas, camellones, viveros, plazas, parques y jardines. ⁽⁹⁷⁾ La capacidad de adaptación a ambientes perturbados por parte de miembros de la familia Sciuridae ha sido documentada en distintas ciudades del mundo, en donde estas especies han llegado a alcanzar altas densidades poblacionales en jardines o incluso campos de golf rodeados por una matriz urbana. ⁽¹⁰³⁻¹⁰⁶⁾

Las características de los parches de hábitat ocupados por las ardillas en la Ciudad de México, permitieron evaluar la influencia de la estructura del paisaje con respecto a la seroprevalencia a OPXV. En el MGL construido a partir de atributos del paisaje, la distancia a la población más cercana fue estadísticamente significativa con relación a la seroprevalencia, lo que puede atribuirse al intercambio de individuos que favorece el transporte de patógenos entre poblaciones facilitando la transmisión de enfermedades; esta relación se ha hecho evidente en múltiples investigaciones enfocadas en determinar la relación entre la fragmentación de hábitat y la transmisión de enfermedades. ^(13,107) En los

parches de esta ciudad, el intercambio de individuos entre fragmentos es posible, aun cuando la matriz es de mala calidad en prácticamente todos los sitios, ya que existen camellones, glorietas, árboles aislados e incluso infraestructura como cables, por donde las ardillas arborícolas pueden transitar, para moverse entre parches.

A pesar de que diversas características de la ciudad como la disponibilidad de recursos favorecen a algunas especies silvestres de hábitos generalistas como las ardillas, las actividades antropogénicas también representan factores causantes de estrés entre las poblaciones silvestres.⁽¹⁰⁸⁾ Estudios observacionales han demostrado que la habituación a estímulos antropogénicos es el resultado del afrontamiento constante.⁽¹⁰⁹⁾ Las ardillas de la ciudad han desarrollado una alta tolerancia a la presencia humana, aunque sólo en ocho de los sitios monitoreados se observó alta tolerancia al humano, en catorce de los sitios se detectaron eventos de suplementación alimenticia en comederos o directamente, por parte de los visitantes, lo que ilustra la estrecha relación entre el humano y las ardillas. El número de visitantes por minuto entre los sitios evaluados, osciló entre 0.14 y 5.6. Este resultado varió en función de la localización, así como de la finalidad de cada sitio, lo que influye directamente en la habituación desarrollada por parte de las ardillas. Así los sitios más transitados fueron los sitios en donde se observó mayor tolerancia al humano.

Los resultados obtenidos del MGL desarrollado a partir de variables asociadas a la actividad antropogénica, no explicaron de manera satisfactoria asociación entre la seroprevalencia a OPXV y el grado de tolerancia al humano. En algunas investigaciones se ha demostrado asociación entre la presencia de humanos en el hábitat de poblaciones silvestres y aumento en la liberación de glucocorticoides y catecolaminas como respuesta de los organismos a estrés, gracias a la falta de habituación. La constante circulación de

glucocorticoides en sangre puede alterar las funciones del sistema inmunológico, generando inmunosupresión y aumentando los efectos de una infección e inflamación lo cual llega a favorecer la morbilidad y la mortalidad en una población sometida constantemente a factores estresantes.^(29,37-41,110,111) En esta investigación no se midió ningún parámetro fisiológico que demostrara la presencia de hormonas asociadas a estrés circulando en sangre, por lo que se considera relevante para futuros estudios se tomen en cuenta pruebas que demuestren la relación entre actividades antrópicas y parámetros fisiológicos asociados a estrés.

La presencia de especies como los perros domésticos podría ser un factor desencadenante de la respuesta a estrés por representar una amenaza para las ardillas. Se considera que los registros de presencia de perros por sitio de monitoreo obtenidos en este estudio, no proyectan en algunos casos la realidad, ya que la presencia de perros por sitio fue variable durante el día según lo observado. Durante esta investigación fue imposible realizar más conteos durante el día por cuestiones logísticas, por lo que los datos obtenidos fueron insuficientes para hacer una estimación más representativa. En algunos sitios en los que durante los conteos no se registró presencia de perros, como el Jardín Botánico y el Bosque de Chapultepec, se observó la presencia de esta especie en otros momentos del día.

La variable asociada a eventos de suplementación alimenticia tampoco demostró correlación significativa con respecto a la seroprevalencia. En la actualidad existen pocas investigaciones que consideren el efecto de la nutrición en la inmunidad de especies silvestres en vida libre, aun cuando se ha reconocido que el estado nutricional es un conductor importante para el mantenimiento y buen desempeño del sistema inmune.^(30,112) Esta asociación vuelve interesante para futuros estudios evaluar de qué manera influye la

alimentación de especies silvestres que habitan ambientes urbanos en el desempeño del sistema inmunológico.

El número de capturas por parque muestra que aun en parches menores a una hectárea sobreviven al menos diez individuos diferentes; estos datos reflejan parcialmente el éxito de ocupación por parte de las ardillas en diferentes fragmentos de hábitat, pues los datos pueden estar influidos por la variación en el esfuerzo de muestro entre sitios, aun cuando el diseño de muestreo fue establecido en función del tamaño del fragmento y la superficie de hábitat disponible para la ardilla de hábitos arborícolas. En este trabajo se considera que las estimaciones de densidad y tamaño poblacional reflejan la estructura poblacional de las ardillas en las áreas verdes monitoreadas.

En futuras investigaciones que deseen determinar la densidad poblacional de ardillas, se podrían establecer métodos de captura y recaptura, durante periodos de monitoreo más prolongados por sitio, para poder evaluar otros atributos poblacionales como la proporción de sexos y edades con respecto a las distintas épocas del año, el movimiento de individuos entre poblaciones, tasas de natalidad y mortalidad ^(113, 114). En este caso el modelo asociado a atributos poblacionales no mostró resultados significativos, lo que puede sugerir que la infección causada por OPXV no es densodependiente.

El modelo construido a partir de atributos individuales no demostró correlación significativa con respecto a la seroprevalencia a OPXV, aunque el índice corporal presentó un valor marginalmente significativo ($p=0.09$). Las características individuales como edad, sexo, la condición e índice corporal y el estado reproductivo y social, son variables que se ha comprobado están fuertemente ligadas a la respuesta inmune que generan los

organismos al enfrentarse a patógenos, por ser factores moduladores de la respuesta a estrés. ^(32,115) Estas características influyen en el estado fisiológico de los organismos, de tal forma que de ellas dependen en muchas ocasiones los recursos que serán invertidos en la respuesta inmunológica a patógenos. ^(35, 98, 116)

El resto de las variables evaluadas no explicaron de manera satisfactoria la prevalencia de OPXV en ardillas de la Ciudad de México; sin embargo, debido a que el establecimiento de un patógeno en una población es un evento multifactorial, se considera importante que para futuras investigaciones enfocadas en enfermedades en estos roedores se tomen en cuenta otras variables, por ejemplo la interacción con otras especies y las características físicas ambientales. De igual forma se considera relevante realizar pruebas que describan el estado físico de los individuos con la finalidad de conocer el estado inmunológico de la población y su capacidad para responder a la presencia de agentes infecciosos.

Los resultados demuestran que las ardillas de la Ciudad de México han estado expuestas a algún OPXV, resultado relevante por el estrecho contacto de este roedor con los habitantes de esta ciudad, considerando importante realizar más estudios que profundicen en la interacción “fauna silvestre-humanos” con respecto a patógenos de tipo zoonótico como los poxvirus y otras enfermedades virales, bacterianas y parasitarias. El monitoreo de OPXV en esta región es de gran importancia desde dos aspectos fundamentales en el estudio de enfermedades en fauna silvestre; por un lado se está evaluando la circulación de un grupo viral que está ocasionando la extinción a algunas especies endémicas en algunas regiones del mundo ⁽⁹⁸⁾ y por otro lado se está monitoreando

la presencia de un grupo viral que ha representado un riesgo zoonótico en países como Estados Unidos ^(74,75) y la Republica Democrática del Congo. ⁽¹¹⁷⁾

Finalmente la presencia en suero de anticuerpos contra OPXV en las ardillas de la Ciudad de México, hace muy interesante el planteamiento de nuevas investigaciones que se fundamenten en el análisis filogenético de la variante de OPXV circulante, así como su ecología, patogenia, rango de hospederos y el papel que juegan las ardillas y otras especies silvestres en el ciclo del virus.

7. CONCLUSIONES

- La ardilla gris (*Sciurus aureogaster*) ha logrado adaptarse y distribuirse exitosamente en numerosos parches de vegetación de la Ciudad de México, que incluyen glorietas, jardines, plazas, parques urbanos, etc.
- La información obtenida en este trabajo demuestra que las ardillas arborícolas de la Ciudad de México, han estado en contacto con alguna variedad de OPXV, sin embargo se desconoce el origen filogenético del virus que circula en esta región.
- Esta investigación es la primera evidencia serológica de OPXV en fauna silvestre de la República Mexicana; estos datos amplían la información actual sobre la distribución geográfica y el rango de hospederos de este género viral en fauna silvestre de Norteamérica.
- Las pruebas diagnósticas realizadas no mostraron evidencia molecular del OPXV al que las ardillas han estado expuestas, volviendo interesante la continuación de investigaciones sobre este género viral en fauna silvestre de México.
- A pesar de ser un ambiente altamente perturbado, la Ciudad de México ofrece múltiples recursos tanto de hábitat como de alimentación a las especies que han logrado adaptarse como es el caso de la ardilla gris.
- El proceso de urbanización en ocasiones ha favorecido la disponibilidad de recursos tanto de hábitat como de alimentación para especies silvestres; sin embargo la cercanía con humanos, la interacción interespecífica, la baja calidad del hábitat y el intercambio de individuos entre fragmentos puede llegar a favorecer la dispersión de enfermedades.

- Los resultados obtenidos sugieren que la conectividad entre poblaciones puede influir en el intercambio de patógenos entre fragmentos, particularmente en el caso de OPXV en ardillas grises.
- Esta investigación no logró evidenciar datos significativos que sugieran una relación entre la prevalencia de OPXV y variables relacionadas con la actividad humana y con atributos de la población.
- Es posible que exista cierta asociación entre el estado físico de los individuos y la susceptibilidad a OPXV; sin embargo los datos obtenidos no demuestran claramente esta relación, por lo que se propone realizar estudios dirigidos particularmente a estas características.
- La información obtenida en esta investigación es importante para el desarrollo y establecimiento de nuevas investigaciones que monitoreen a esta especie que es tan cercana a la población humana y que puede ser portadora de agentes infecciosos de tipo zoonótico.
- Es de gran importancia conocer los riesgos potenciales de transmisión de enfermedades a los que puede estar expuesta la ardilla gris, al convivir con otras especies animales dentro del área urbana.

8. LITERATURA CITADA

1. Saunders DA, Hobbs RJ, Margules CR. Biological consequences of ecosystem fragmentation - A review. *Conservation Biology*. 1991;5(1):18-32.
2. Altizer S, Harvell D, Friedle E. Rapid evolutionary dynamics and disease threats to biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution*. 2003;18(11):589-96.
3. Fahrig L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. 2003;34:487-515.
4. Ostfeld RS, Meffe GK, Pearl MC. *Conservation Medicine: The birth of another crisis discipline*. En: Aguirre A, Ostfeld RS, Tabor GM, House C, Pearl MC, editores. *Conservation Medicine*. New York: Oxford. 2002:17-26.
5. Bender DJ, Contreras TA, Fahrig L. Habitat loss and population decline: A meta-analysis of the patch size effect. *Ecology*. 1998;79(2):517-33.
6. Fahrig L. Relative effects of habitat loss and fragmentation on population extinction. *Journal of Wildlife Management*. 1997;61(3):603-10.
7. Wilcove DS, Dobson AP. *Conservation biology: the science of scarcity and diversity*. *Habitat fragmentation in the temperate zone*. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 1986:237-56.
8. Pickett ST. *The ecology of natural disturbance and patch dynamics*. Press A, 1985.
9. Pagola-Cardé S, Saiz-Salinas JJ. Macrozoobenthic changes on rocky shores of the Bight of Bilbao: 14 Years of monitoring biological recovery. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*. 2001;17(1-2):163-77.
10. Wiegand T, Revilla E, Moloney KA. Effects of habitat loss and fragmentation on population dynamics. *Conservation Biology*. 2005;19(1):108-21.
11. Savard JPL, Clergeau P, Mennechez G. Biodiversity concepts and urban ecosystems. *Landscape and Urban Planning*. 2000;48(3-4):131-42.
12. Forman RTT. Some general-principles of landscape and regional ecology. *Landscape Ecology*. 1995;10(3):133-42.
13. Bradley CA, Altizer S. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *Trends in Ecology & Evolution*. 2007;22(2):95-102.

14. Harding KC, Begon M, Eriksson A, Wennberg B. Increased migration in host-pathogen metapopulations can cause host extinction. *Journal of Theoretical Biology*. 2012;7(298):1-7.
15. Anderson BD, Mays CE. A study of a population of *Passer domesticus* that has been shown to be carrying St Louis encephalitis. *Proceedings of the Indiana Academy of Science* 1979. 1979;88:436-47.
16. Anderson SH, Robbins CS. Habitat size and bird community management. *Transactions of the North American Wildlife and Natural Resources Conference*. 1981;511-20.
17. Wright AN, Gompper ME. Altered parasite assemblages in raccoons in response to manipulated resource availability. *Oecologia*. 2005;144(1):148-56.
18. Andren H. Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat - A review. *Oikos*. 1994;71(3):355-66.
19. With KA. Assessing the risk of invasive spread in fragmented landscapes. *Risk Analysis*. 2004;24(4):803-15.
20. Suzan G, Ceballos G. The role of feral mammals on wildlife infectious disease prevalence in two nature reserves within Mexico City limits. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2005;36(3):479-84.
21. Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica*. 2001;23;78(2):103-16.
22. Allan BF, Keesing F, Ostfeld RS. Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk. *Conservation Biology*. 2003;17(1):267-72.
23. Suzan G, Marce E, Giermakowski JT, Armien B, Pascale J, Mills J, Ceballos G, Gomez A, Aguirre AA, Salazar-Bravo J, Armien A, Parmenter R, Yates T. The effect of habitat fragmentation and species diversity loss on hantavirus prevalence in Panama. En: Sparagano OAE, Maillard JC, Figueroa JV, editores. *Animal Biodiversity and Emerging Diseases: Prediction and Prevention*. 2008:80-3.
24. Anderson RM, May RM. population biology of infectious-diseases. *Nature*. 1979;280(5721):361-7.

25. Keymer AE, Read AF. Behavioural ecology: the impact of parasitism. En: Toft CA, Aeschlimann A, Bolis L, editores. Parasite-host associations: coexistence or conflict?. Nueva York: Oxford University Press, 1991:37-61.
26. Moller AP. Ectoparasites increase the cost of reproduction in their hosts. *Journal of Animal Ecology*. 1993;62(2):309-22.
27. Cottontail VM, Wellinghausen N, Kalko EKV. Habitat fragmentation and haemoparasites in the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis* (Phyllostomidae) in a tropical lowland forest in Panama. *Parasitology*. 2009;136(10):1133-45.
28. Castellanos M. El efecto de la fragmentación en la variabilidad genética de los perros llaneros (*Cynomys ludovicianus*) en Janos-Nuevo Casas Grandes, Chihuahua, México (tesis de maestría). México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2009.
29. Isaksson C, Ornborg J, Stephensen E, Andersson S. Plasma glutathione and carotenoid coloration as potential biomarkers of environmental stress in great tits. *EcoHealth*. 2005;2(2):138-46.
30. Bello-Gutierrez J, Suzan G, Hidalgo-Mihart MG, Salas G. Alopecia in Bats from Tabasco, Mexico. *Journal of Wildlife Diseases*. 2010;46(3):1000-4.
31. Tarlow EM, Blumstein DT. Evaluating methods to quantify anthropogenic stressors on wild animals. *Applied Animal Behaviour Science*. 2007;102(3-4):429-51.
32. Hofer H, East ML. Biological conservation and stress. En: Moller AP, Milinski M, Slater PJB, editores. *Stress and Behavior*. 1998:405-525.
33. Wikelski M, Cooke SJ. Conservation physiology. *Trends in Ecology & Evolution*. 2006;21(1):38-46.
34. Martin LB. Stress and immunity in wild vertebrates: Timing is everything. *General and Comparative Endocrinology*. 2009;163(1-2):70-6.
35. Bartolomucci A. Social stress., immune functions and disease in rodents. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2007;28(1):28-49.
36. Suzan Azpiri G, Galindo Maldonado F, Ceballos Gonzalez G. The importance of the study of diseases in wildlife conservation. *Veterinaria Mexico*. 2000;31(3):223-30.

37. Wingfield JC, Hunt K, Breuner C, Dunlap K, Fowler GS, Freed L, Lepson J. Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. En: Clemmons JR, Buchholz R, editores. Behavioral approaches to conservation in the wild. Seattle: Cambridge University Press, 1997:95-131.
38. Maule AG, VanderKooi SP. Stress-induced immune-endocrine interaction. En: Balm HM, editor. Stress physiology in animals. EUA: Sheffield Academic Press; Sheffield, 1999:205-245.
39. Hopkins WA, Mendonca MT, Congdon JD. Increased circulating levels of testosterone and corticosterone in southern toads, *Bufo terrestris*, exposed to coal combustion waste. General and Comparative Endocrinology. 1997;108(2):237-46.
40. Romero LM, Wikelski M. Exposure to tourism reduces stress-induced corticosterone levels in Galapagos marine iguanas. Biological Conservation. 2002;108(3):371-4.
41. Muellner A, Linsenmair KE, Wikelski M. Exposure to ecotourism reduces survival and affects stress response in hoatzin chicks (*Opisthocomus hoazin*). Biological Conservation 2004 August;118(4):549-58.
42. Charles-Smith LE, Cowen P, Schopler R. Environmental and physiological factors contributing to outbreaks of cryptosporidium in coquerel's sifaka (*propithecus coquereli*) at the duke lemur center: 1999-2007. Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 2010;41(3):438-44.
43. Harkonen T, Harding K, Rasmussen TD, Teilmann J, Dietz R. Age- and sex-specific mortality patterns in an emerging wildlife epidemic: The phocine distemper in european harbour seals. Plos One. 2007;12;2(9).
44. Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD. Wildlife ecology - Emerging infectious diseases of wildlife - Threats to biodiversity and human health. Science. 2000;21;287(5452):443-9.
45. Gibbs WW, Soares C. Preparing for a pandemic. Scientific American. 2005;293(5):44-+.
46. Kiupel M, Simmons HA, Fitzgerald SD, Wise A, Sikarskie JG, Cooley TM, Hollamby SR, Maes R. West Nile virus infection in Eastern fox squirrels (*Sciurus niger*). Veterinary Pathology. 2003;40(6):703-707.

47. Peters M, Vidovszky MZ, Harrach B, Fischer S, Wohlsein P, Kilwinski J. Squirrel adenovirus type 1 in red squirrels (*Sciurus vulgaris*) in Germany. *Veterinary Record*. 2011;169(7):182-U73.
48. Everest DJ, Duff JP, Higgins RJ. Wildlife Rotavirus in a wild English red squirrel (*Sciurus vulgaris*) identified by electron microscopy. *Veterinary Record*. 2011;169(6).
49. Himsworth CG, McInnes CJ, Coulter L, Everest DJ, Hill JE. Characterization of a novel poxvirus in a North American red squirrel (*Tamiasciurus hudsonicus*). *Journal of Wildlife Diseases*. 2013;49(1):173-9.
50. McInnes CJ, Coulter L, Dagleish MP, Deane D, Gilray J, Percival A, Willoughby K, Scantlebury M, Marks N, Graham D, Everest DJ, McGoldrick M, Rochford J, McKay F, Sainsbury AW. The emergence of squirrelpox in Ireland. *Animal Conservation*. 2013;16(1):51-9.
51. Obon E, Juan-Salles C, McInnes CJ, Everest DJ. Poxvirus identified in a red squirrel (*Sciurus vulgaris*) from Spain. *Veterinary Record*. 2011;168(3):86-.
52. Sainsbury AW, Gurnell J. An investigation into the health and welfare of red squirrels, *Sciurus vulgaris*, involved in reintroduction studies. *Veterinary Record*. 1995;137(15):367-70.
53. Duff JP, Scott A, Keymer IF. Parapox virus infection of the grey squirrel. *Veterinary Record*. 1996;138(21):527.
54. Moss B. *Poxviridae: The viruses and their replication*. En: Knipe D, Howley P, editores. *Fields Virology*, 5th edition. EUA: Lippincott Williams & Wilkins. 2007: 2907-2945
55. Buller R. Poxviruses. En: Buller R, editor. *Clinical virology manual* 3rd ed. Washington DC: ASM Press. 2000:472-486.
56. Hutson CL, Damon IK. Monkeypox virus infections in small animal models for evaluation of anti-poxvirus agents. *Viruses-Basel*. 2010;2(12):2763-76.
57. Schatzmayr HG, Costa RVC, Goncalves MCR, D'Andrea PS, Barth OM. Human and animal infections by vaccinia-like viruses in the state of Rio de Janeiro: A novel expanding zoonosis. *Vaccine*. 2011;29:D65-D9.

58. Emerson GL, Li Y, Frace MA, Olsen-Rasmussen MA, Khristova ML, Govil D, Sammons SA, Regnery RL, Karem KL, Damon IK, Carroll DS. The phylogenetics and ecology of the Orthopoxviruses endemic to North America. *Plos One*. 2009;4(10).
59. Knight JC, Goldsmith CS, Tamin A, Regnery RL, Regnery DC, Esposito JJ. Further analyses of the Orthopoxviruses *Volepox* virus and *Raccoonpox* virus. *Virology*. 1992;190(1):423-33.
60. Regnery DC. Isolation and partial characterization of an Orthopoxvirus from a california vole (*microtus-californicus*). *Archives of Virology*. 1987;94(1-2):159-62.
61. Gallardo-Romero NF, Drew CP, Weiss SL, Metcalfe MG, Nakazawa YJ, Smith SK, Emerson GL, Hutson CL, Salzer JS, Bartlett JH, Olson VA, Clemmons CJ, Davidson WB, Zaki SR, Karem KL, Damon IK, Carroll DS. The pox in the North American backyard: *Volepox* virus pathogenesis in california mice (*Peromyscus californicus*). *Plos One*. 2012;7(8).
62. Valdéz AM, Téllez-Girón G. Ardilla gris. En: Ceballos G, Oliva G, editores. *Los Mamíferos Silvestres de México*. México: Fondo de Cultura Económica, 2005:547-548.
63. Ceballos G BS, González C y Martínez E. Distribución potencial "Extraído del proyecto DS006" Modelado de la distribución de las especies de mamíferos de México para un análisis GAP. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México Financiado por la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) México2006.
64. Alarcón M. Las ardillas de México. *Biodiversitas*. 2003;51:1-7.
65. Álvarez T, Aviña C. Notas acerca de algunas especies mexicanas de ardillas del género *Sciurus* (Rodentia: Sciuridae). *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*. 1963;24:33-9.
66. Flores VO, Gerez P. Biodiversidad y conservación en México: vertebrados, vegetación y uso del suelo. Segunda ed. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Universidad Nacional Autónoma de México; 1994.

67. Organización de las Naciones Unidas (ONU) World Urbanization Prospects: The 2011 Revision: New York, 2012.
68. Torres DR. Planeación, espacios verdes y sustentabilidad en el Distrito Federal. México (tesis de doctorado): México: Universidad Autónoma Metropolitana; 2005.
69. INEGI. Estadísticas del Medio Ambiente del Distrito Federal y Zona Metropolitana. 2002.
70. Monroy VO, Rangel-Cordero H, Aranda M, Velázquez A, Romero FJ. Los mamíferos de habitat templados del sur de la Cuenca de México. En: Biodiversidad de la Cuenca de México. México: 141-159.
71. Hortelano-Moncada Y, Cervantes FA, Trejo-Ortiz A. Wild mammals of Reserva Ecología del Pedregal de San Angel, Ciudad Universitaria, UNAM, Mexico, D.F. Revista Mexicana de Biodiversidad. 2009;80(2):507-20.
72. de Ita AO, de Silva Garza HG. A new locality for the Sierra Madre Sparrow (*Xenospiza baileyi*). Ornitología Neotropical. 2002;13(2):203-4.
73. SAGARPA. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
74. Hutson CL, Lee KN, Abel J, Carroll DS, Montgomery JM, Olson VA, Li Y, Davidson W, Hughes C, Dillon M, Spurlock P, Kazmierczak JJ, Austin C, Miser L, Sorhage FE, Howell J, Davis JP, Reynolds MG, Braden Z, Karem KL, Damon IK, Regnery RL. Monkeypox zoonotic associations: Insights from laboratory evaluation of animals associated with the multi-state us outbreak. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 2007;76(4):757-67.
75. Karem KL, Reynolds M, Braden Z, Lou G, Bernard N, Patton J, Damon IK. Characterization of acute-phase humoral immunity to Monkeypox: Use of immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assay for detection of monkeypox infection during the 2003 North American outbreak. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 2005;12(7):867-72.
76. Boulanger D, Crouch A, Brochier B, Bennett M, Clement J, Gaskell RM, Baxby D, Pastoret PP. Serological survey for Orthopoxvirus infection of wild mammals in areas where a recombinant rabies virus is used to vaccinate foxes. Veterinary Record. 1996;138(11):247-9.

77. Gallardo-Romero NF, Velasco-Villa A, Weiss SL, Emerson GL, Carroll DS, Hughes CM, Li Y, Karem KL, Damon IK, Olson VA. Detection of North American Orthopoxviruses by real time-PCR. *Virology Journal*. 2011;20;8.
78. Ojeda S, Domi A, Moss B. Vaccinia virus G9 protein is an essential component of the poxvirus entry-fusion complex. *Journal of Virology*. 2006;80(19):9822-30.
79. Brito D, Fernandez FAS. Patch relative importance to metapopulation viability: the neotropical marsupial *Micoureus demerarae* as a case study. *Animal Conservation*. 2002;5:45-51.
80. Schlaepfer MA, Gavin TA. Edge effects on lizards and frogs in tropical forest fragments. *Conservation Biology*. 2001;15(4):1079-90.
81. Subirós JV, Linde DV, Pascual AL, Palom AR. Conceptos y métodos fundamentales en ecología del paisaje (landscape ecology). Una interpretación desde la geografía. *Documents D'Anàlisi Geogràfica*. 2006;48:151-66.
82. Gurnell J, Lurz PWW, Shirley MDF, Cartmel S, Garson PJ, Magris L, Steele J. Monitoring red squirrels *Sciurus vulgaris* and grey squirrels *Sciurus carolinensis* in Britain. *Mammal Review*. 2004;34(1-2):51-74.
83. Villa LJ, Carey AB, Wilson TM, Glos KE. Maturation and reproduction of northern flying squirrels in Pacific Northwest forests. U S Forest Service General Technical Report PNW. 1999;444:i-iv, 1-59.
84. Magaña MdCP. Condición corporal de hembras grávidas de iguana verde en dos sitios del estado de Veracruz (tesis de licenciatura. Veracruz, México: Universidad Veracruzana, 2009.
85. Shapiro SS, Wilk MB. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*. 1965;52:591-&.
86. Hoffman JP, editor. Generalized linear models. An applied approach. Boston, Massachusetts, USA.2004.
87. Álvarez T. The recent mammals of Tamaulipas, México. University of Kansas Publications, Museum of Natural History. 1963;14:363-473.
88. Coates-Estrada R. Manual de identificación de Campo de los Mamíferos de la Estación de Biología "Los Tuxtlas". Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México 1986.

89. Emmons LH. Neotropical Forest Mammals. A field guide. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois 1990.
90. Goodwin G. Mammals from the state of Oaxaca, Mexico, in the American Museum of Natural History. Bulletin of American Museum of Natural History. 1969;141:1-270.
91. Hall E, editor. The mammals of North America. Nueva York: John Wiley y Sons; 1981.
92. Hall E. The Mammals of Veracruz University of Kansas Publications. Museum of Natural History. 1963;14:165-362.
93. Ramírez-Pulido J. Mamíferos de la Costa Grande de Guerrero, México. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología. 1977;48:243-92.
94. Hopper ET. Notes on mammals of Western and Southern México. Journal of Mammalogy. 1961;42:120-2.
95. Rosario SL. Distribución y hábitat de la ardilla *Sciurus aureogaster* en el Bosque de Chapultepec (tesis de licenciatura). México: Universidad Autónoma Metropolitana; 2003.
96. Ramírez RHL. Estudio histológico de las gónadas de *Sciurus aureogaster* del Bosque de Chapultepec durante un ciclo anual (tesis de licenciatura). México: Instituto Politécnico Nacional; 2005.
97. Mora-Ascencio P, Mendoza-Duran A, Chavez C. Population density and damage caused by the Mexican red squirrel *Sciurus aureogaster*: implicatons for the conservation of the Viveros de Coyoacan Park, Mexico. Revista Mexicana de Mastozoología. 2010;14:7-22.
98. Sainsbury AW, Deaville R, Lawson B, Cooley WA, Farelly SSJ, Stack MJ, Duff P, McInnes CJ, Gurnell J, Russell PH, Rushton SP, Pfeiffer DU, Nettleton P, Lurz PWW. Poxviral disease in red squirrels *Sciurus vulgaris* in the UK: Spatial and temporal trends of an emerging threat. EcoHealth. 2008;5(3):305-16.
99. Alexander FV, Herman Y, McConell S, Rothstein N, Yager R. Survey of wild mammals in a Chesapeake Bay area for selected zoonoses. Journal of Wildlife Diseases. 1972;8:119-26.

100. Salzer JS, Carroll DS, Rwego IB, Li Y, Falendysz EA, Shisler JL, Karem KL, Damon IK, Gillespie TR. Serologic evidence for circulating Orthopoxviruses in peridomestic rodents from rural Uganda. *Journal of Wildlife Diseases*. 2013;49(1):125-31.
101. Thomas K, Tompkins DM, Sainsbury AW, Wood AR, Dalziel R, Nettleton PF, McInnes CJ. A novel poxvirus lethal to red squirrels (*Sciurus vulgaris*). *Journal of General Virology*. 2003;84:3337-41.
102. Saluzzo JF, Adam F, Heme G, Digoutte JP. Isolation of viruses from rodents in Senegal (1983-1985) - Description of a new poxvirus. *Bulletin De La Societe De Pathologie Exotique* 1986. 1986;79(3):323-33.
103. Meehan K, Jodice PGR. An assessment of fox squirrel habitat on golf courses along the South Carolina Coast. *USGA Turfgrass and Environmental Research Online*. 2008;7(4):1-8.
104. Meehan K, Jodice PGR. Landscape scale correlates of fox squirrel presence on golf courses in coastal South Carolina. *Southeastern Naturalist*. 2010;9(3):573-86.
105. Hoffmann IE, Millesi E, Pieta K, Dittami JP. Anthropogenic effects on the population ecology of European ground squirrels (*Spermophilus citellus*) at the periphery of their geographic range. *Mammalian Biology*. 2003;68(4):205-13.
106. Parker TS, Nilon CH. Gray squirrel density, habitat suitability, and behavior in urban parks. *Urban Ecosystems*. 2008;11(3):243-55.
107. Plowright RK, Foley P, Field HE, Dobson AP, Foley JE, Eby P, Daszak P. Urban habituation, ecological connectivity and epidemic dampening: the emergence of Hendra virus from flying foxes (*Pteropus spp.*). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2011;278(1725):3703-12.
108. Enzenbacher DJ. Antarctic tourism and environmental concerns. *Marine Pollution Bulletin*. 1992;25(9-12):258-65.
109. Bejder L, Samuels A, Whitehead H, Gales N, Mann J, Connor R, Heithaus M, Watson-Capps J, Flaherty C, Kruetzen M. Decline in relative abundance of bottlenose dolphins exposed to long-term disturbance. *Conservation Biology*. 2006;20(6):1791-8.

110. Dhabhar FS. A hassle a day may keep the doctor away: Stress and the augmentation of immune function. *Integrative and Comparative Biology*. 2002;42(3):556-64.
111. Dhabhar FS. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: Implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmunomodulation*. 2009;16(5):300-17.
112. Plowright RK, Field HE, Smith C, Divljan A, Palmer C, Tabor G, Daszak P, Foley JE. Reproduction and nutritional stress are risk factors for Hendra virus infection in little red flying foxes (*Pteropus scapulatus*). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2008;275(1636):861-9.
113. Waters JR, Zabel CJ. Northern flying squirrel densities in fir forests of Northeastern California. *Journal of Wildlife Management*. 1995;59(4):858-66.
114. Di Pierro E, Bertolino S, Martinoli A, Preatoni D, Tosi G, Wauters LA. Estimating offspring production using capture-mark-recapture and genetic methods in red squirrels. *Ecological Research*. 2010;25(2):395-402.
115. Wingfield JC, Maney DL, Breuner CW, Jacobs JD, Lynn S, Ramenofsky M, Richardson RD. Ecological bases of hormone-behavior interactions: The "emergency life history stage". *American Zoologist*. 1998;38(1):191-206.
116. Hathaway SC. Leptospirosis in New-Zealand - An ecological view. *New Zealand Veterinary Journal*. 1981;29(7):109-12.
117. Khodakevich L, Szczeniowski M, Nambumadisu, Jezek Z, Marennikova S, Nakano J, Meier F. Monkeypox virus in relation to the ecological features surrounding human-settlements in Bumba zone, Zaire. *Tropical and Geographical Medicine*. 1987;39(1):56-63.
118. Rivas D. Mapa de áreas verdes urbanas del Distrito Federal. Centro GEO (SEP-CONACyT) Inventario Areas Verdes Urbanas DF2003.

Apéndice I

Cuadro 1
Miembros de la familia Poxviridae

Género	Especie	Hospedero principal
<i>Orthopoxvirus</i>	<i>Variola</i>	Humano
	<i>Vaccinia</i>	Humanos, bovinos, búfalos, cerdos y conejos
	<i>Cowpox</i>	Bovinos, humanos, roedores, gatos, jerbos, grandes felinos, elefantes, rinocerontes
	<i>Camelpox</i>	Camellos
	<i>Ectromelia</i>	Roedores
	<i>Monkeypox</i>	Ardillas, primates, humanos
	<i>Uasin Gishu</i>	Equinos
	<i>Taterapox</i>	Jerbos
	<i>Raccoonpox</i>	Mapaches
	<i>Volepox</i>	Roedores
	<i>Skunkpox</i>	Zorrillos
	<i>Sealpox</i>	Focas grises
<i>Capripoxvirus</i>	<i>Sheeppox</i>	Ovinos y caprinos
<i>Suipoxvirus</i>	<i>Swinepox</i>	Cerdos
<i>Leporipoxvirus</i>	<i>Myxoma</i>	Conejos
	<i>Squirrel fibroma</i>	Ardilla gris, ardilla roja y ardilla zorro
<i>Molluscipoxvirus</i>	<i>Molluscum contagiosum</i>	Humanos, primates no humanos, aves, canguros, perros y equinos
<i>Yatapoxvirus</i>	<i>Yabapox</i> y <i>Tanapox</i>	Primates y humanos
<i>Avipoxvirus</i>	<i>Fawilpox, canarypox, crowpox, juncopox, mynahpox, pigeonpox, psittacinepox, quailpox, sparrowpox, starlingpox, turkeypox, etc.</i>	Pollos, guajolotes y muchas otras especies de aves
	<i>Orf</i>	Ovinos, Caprinos y humanos
<i>Parapoxvirus</i>	<i>Squirrelpox</i>	Ardillas
	<i>Pseudocowpox</i>	Bovinos y humanos

Cuadro 2

Clasificación taxonómica de la ardilla gris

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Mammalia
Orden	Rodentia
Familia	Sciuridae
Subfamilia	Sciurinae
Género	<i>Sciurus</i>
Subgénero	<i>Sciurus</i>
Especie	<i>S. aureogaster</i>





Figura 1a. Distribución actual de la ardilla gris (*Sciurus aureogaster*).⁽⁶²⁾

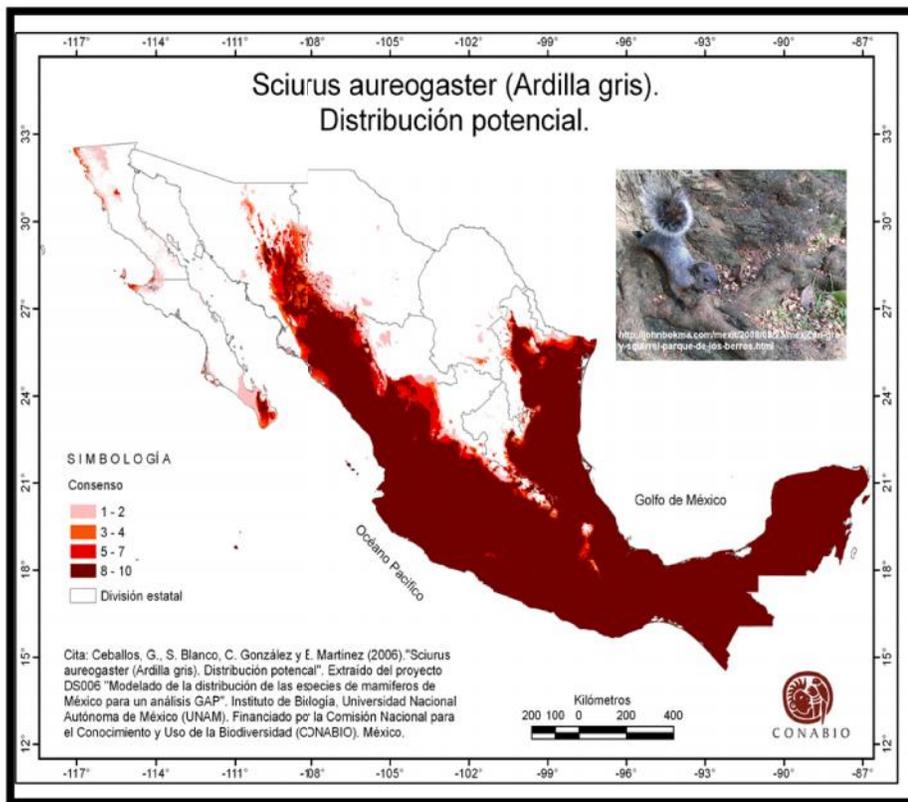


Figura 1b. Distribución potencial de la ardilla gris (*Sciurus aureogaster*).⁽⁶³⁾

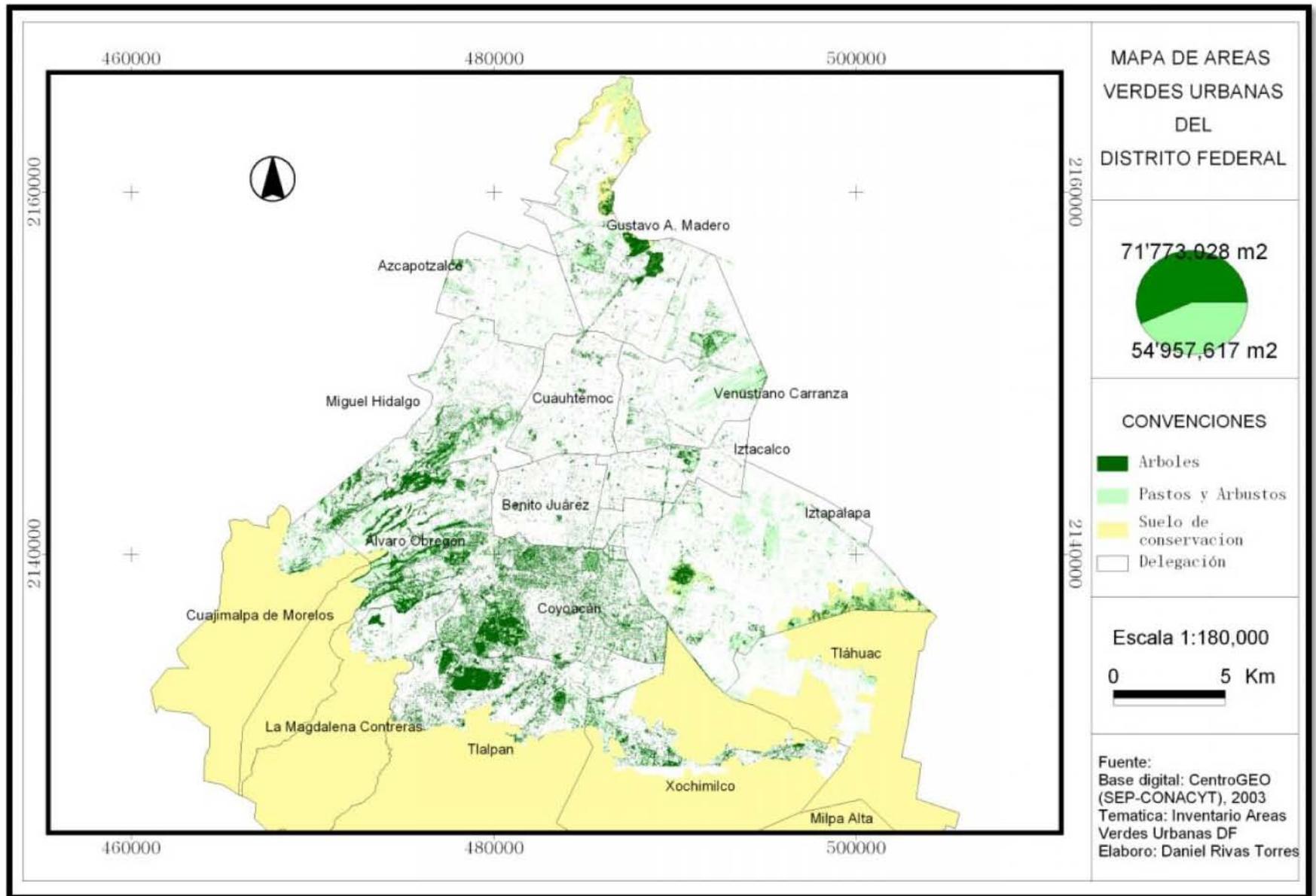


Figura 2. Áreas Verdes Urbanas del Distrito Federal. ⁽¹¹⁸⁾

Cuadro 3Sitios de monitoreo de ardilla gris (*Sciurus aureogaster*).

DELEGACIÓN	ÁREA VERDE
Coyoacán	Jardín Botánico, UNAM
	Parque Mashayosi Ohira
	Jardín Hidalgo
	Viveros de Coyoacán
	Museo de las Intervenciones
	Parque Xicoténcatl
	Parque Margait
Plaza de la Conchita	
Álvaro Obregón	Parque Tagle
	Jardín de la Bombilla
	Parque Ecológico el Batán
Miguel Hidalgo	Glorieta América
	Parque Lincoln
	Bosque de Chapultepec (1ª Sección)
Benito Juárez	Parque San Lorenzo
	Parque Luis G. Urbina
	Parque Francisco Villa
Tlalpan	Bosque de Tlalpan

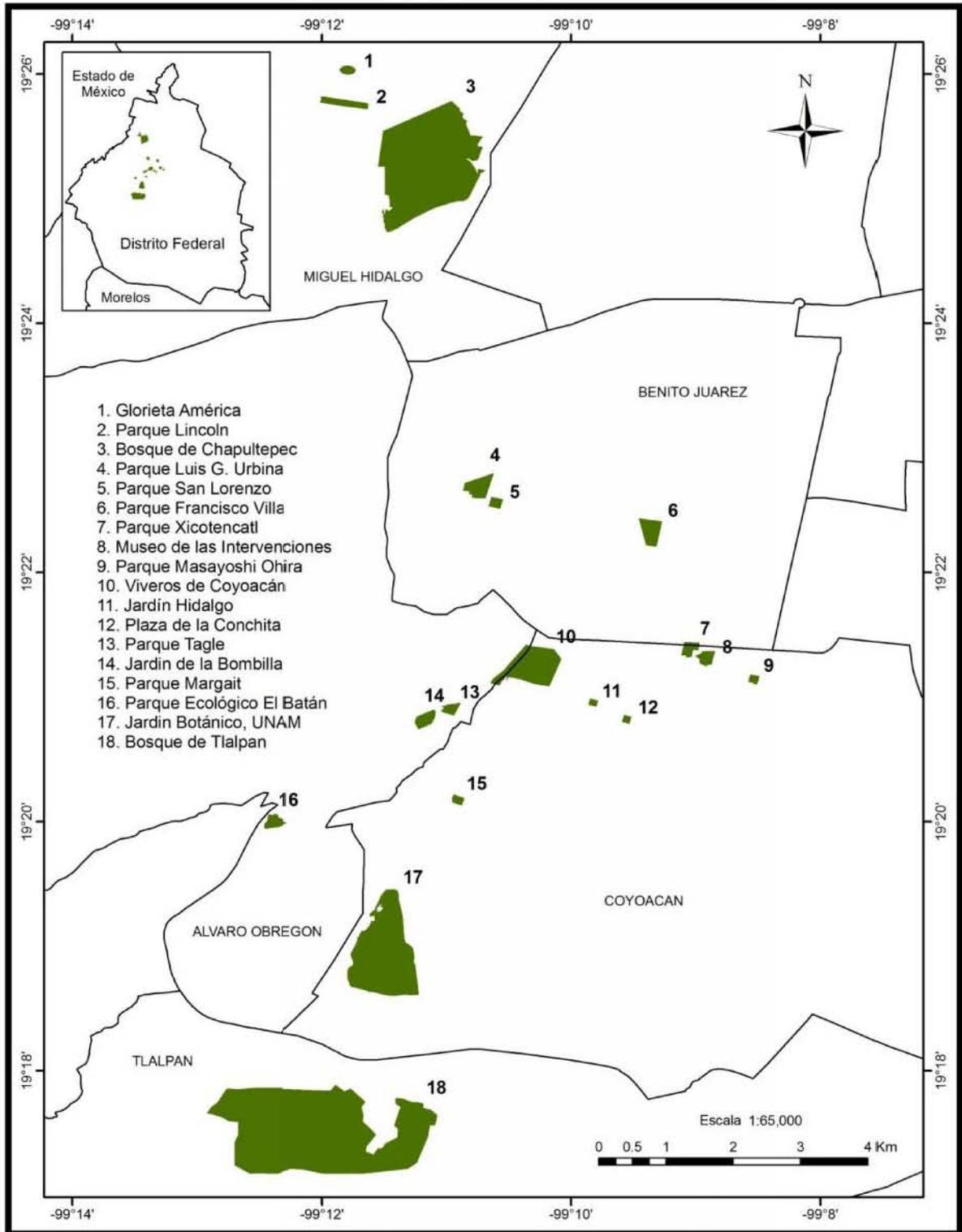


Figura 3. Sitios de monitoreo de ardilla gris (*Sciurus aureogaster*).

Cuadro 4

Número de cuadrantes establecidos de acuerdo a la superficie del sitio de monitoreo

SITIO DE MUESTREO	SUPERFICIE Ha	No. CUADRANTES	TRAMPAS/DÍA
Jardín Hidalgo	0.58	1	9
Parque Margait	0.85	1	9
Plaza de la Conchita	0.85	1	9
Parque Masayoshi Ohira	1.16	1	9
Glorieta América	1.45	1	9
Museo de las Intervenciones	1.49	1	9
Parque San Lorenzo	1.96	1	9
Parque Ecológico el Batán	2.9	2	18
Parque Tagle	2.98	1	9
Parque Xicotécatl	3.7	1	9
Parque Lincoln	3.98	1	9
Jardín de la Bombilla	4.8	1	9
Parque Luis G. Urbina	8	2	18
Parque Francisco Villa	8.06	2	18
Jardín Botánico, UNAM	19.07	2	18
Viveros de Coyoacán	34.79	3	27
Bosque de Tlalpan	102	3	27
Bosque de Chapultepec (1ª sección)	146	6	54

Apéndice II

Cuadro 1

Matriz de correlación de variables asociadas a atributos del paisaje, actividades antropogénicas y atributos poblacionales.

	Sp	Aa	P	P500	P1000	Dpc	Dc500	Dc1000	Aa500	Aa1000	If	Th	Sa	Fp	Vm	Dp	Tp
Sp	1.00	-0.32	-0.24	-0.18	-0.09	-0.52	-0.49	-0.36	0.39	0.25	0.02	-0.27	0.10	-0.18	-0.11	-0.20	-0.27
Aa	-0.32	1.00	0.82	0.29	0.44	-0.02	0.10	0.11	-0.12	0.01	-0.31	0.41	0.20	-0.39	0.12	0.21	0.87
P	-0.24	0.82	1.00	0.27	0.31	0.04	-0.11	-0.22	0.11	0.20	-0.01	0.28	0.06	-0.42	0.01	0.25	0.90
P500	-0.18	0.29	0.27	1.00	0.68	-0.16	0.07	-0.07	-0.01	0.22	-0.17	-0.09	-0.08	0.29	0.24	-0.29	0.22
P1000	-0.09	0.44	0.31	0.68	1.00	-0.07	-0.05	-0.13	-0.10	0.10	-0.40	0.06	0.00	-0.21	0.21	0.15	0.41
Dpc	-0.52	-0.02	0.04	-0.16	-0.07	1.00	0.45	0.26	-0.39	-0.30	0.30	0.28	0.07	0.08	0.28	0.38	0.13
Dc500	-0.49	0.10	-0.11	0.07	-0.05	0.45	1.00	0.88	-0.89	-0.81	-0.36	0.38	0.26	0.39	0.40	0.12	0.06
Dc1000	-0.36	0.11	-0.22	-0.07	-0.13	0.26	0.88	1.00	-0.84	-0.83	-0.47	0.49	0.36	0.43	0.51	0.22	0.03
Aa500	0.39	-0.12	0.11	-0.01	-0.10	-0.39	-0.89	-0.84	1.00	0.93	0.51	-0.42	-0.17	-0.18	-0.37	-0.25	-0.15
Aa1000	0.25	0.01	0.20	0.22	0.10	-0.30	-0.81	-0.83	0.93	1.00	0.48	-0.39	-0.20	-0.23	-0.21	-0.30	-0.06
If	0.02	-0.31	-0.01	-0.17	-0.40	0.30	-0.36	-0.47	0.51	0.48	1.00	-0.23	-0.42	0.00	-0.04	-0.13	-0.26
Th	-0.27	0.41	0.28	-0.09	0.06	0.28	0.38	0.49	-0.42	-0.39	-0.23	1.00	0.58	0.08	0.48	0.53	0.47
Sa	0.10	0.20	0.06	-0.08	0.00	0.07	0.26	0.36	-0.17	-0.20	-0.42	0.58	1.00	0.11	0.18	0.21	0.24
Fp	-0.18	-0.39	-0.42	0.29	-0.21	0.08	0.39	0.43	-0.18	-0.23	0.00	0.08	0.11	1.00	0.25	-0.08	-0.41
Vm	-0.11	0.12	0.01	0.24	0.21	0.28	0.40	0.51	-0.37	-0.21	-0.04	0.48	0.18	0.25	1.00	0.17	0.09
Dp	-0.20	0.21	0.25	-0.29	0.15	0.38	0.12	0.22	-0.25	-0.30	-0.13	0.53	0.21	-0.08	0.17	1.00	0.49
Tp	-0.27	0.87	0.90	0.22	0.41	0.13	0.06	0.03	-0.15	-0.06	-0.26	0.47	0.24	-0.41	0.09	0.49	1.00

Sp = seroprevalencia, Aa = área arbolada, P = perímetro, P500 = número de poblaciones a 500m, P1000 = número de poblaciones a 1000m, Dpc = distancia a la población más cercana, Dc500 = densidad de calles en 500m, Dc1000 = densidad de calles en 1000m, Aa500= porcentaje de área arbolada en 500m, Aa1000 = porcentaje de área arbolada en 1000m, If = índice de forma, Th = grado de tolerancia al humano, Sa = suplementación alimenticia, Fp = frecuencia de perros por minuto, Vm = número de visitantes por minuto, Dp = densidad poblacional, y Tp = tamaño poblacional. En negritas se indican los coeficientes de correlación que fueron significativos (generalmente mayores a 0.5).

Cuadro 2
Número de capturas y atributos de los individuos capturados por sitio de monitoreo

Sitio de muestreo CC	TOTAL	Sexo		Edad		E. Reproductivo		C. Morfométricas					
		H	M	A	J	A	I	LC	Peso	IC	CC		
											1	2	3
Jardín Hidalgo	23	9 (39)	14 (61)	18 (78)	5 (22)	17 (74)	6 (26)	230	467	2.01	0	20	3
Parque Margait	13	7 (54)	6 (46)	8 (62)	5 (38)	2 (15)	11 (85)	228	435	1.9	1	12	0
Plaza de la Conchita	11	5 (45)	6 (55)	7 (64)	4 (36)	5 (45)	6 (55)	224	454	2.02	0	10	1
Parque Masayoshi Ohira	12	6 (50)	6 (50)	8 (67)	4 (33)	8 (67)	4 (33)	231	431	1.85	0	12	0
Glorieta América	11	7 (78)	2 (22)	5 (56)	4 (44)	5 (56)	4 (44)	231	417	1.78	0	7	2
Museo de las Intervenciones	15	7 (47)	8 (53)	12 (80)	3 (20)	8 (53)	7 (47)	230	441	1.92	0	13	2
Parque San Lorenzo	16	5 (33)	10 (67)	14 (93)	1 (7)	13 (87)	2 (13)	240	506	2.11	0	12	3
Parque Ecológico Batán	13	3 (23)	10 (77)	7 (54)	6 (46)	5 (38)	8 (62)	234	445	1.89	0	12	1
Parque Tagle	19	7 (41)	10 (59)	11 (65)	6 (35)	11 (65)	6 (35)	235	433	1.88	0	15	2
Parque Xicoténcatl	17	7 (41)	10 (59)	15 (88)	2 (12)	12 (71)	5 (29)	242	513	2.12	1	13	3
Parque Lincoln	13	4 (36)	7 (64)	9 (82)	2 (18)	9 (82)	2 (18)	248	484	1.95	0	10	1
Jardín de la Bombilla	15	6 (40)	9 (60)	10 (67)	5 (33)	9 (60)	6 (40)	234	444	1.88	3	11	1
Parque Luis G. Urbina	24	9 (39)	14 (61)	18 (78)	5 (22)	17 (74)	6 (26)	238	488	2.04	1	18	4
Parque Francisco Villa	14	8 (57)	6 (43)	11 (79)	3 (21)	10 (77)	3 (23)	235	451	1.9	1	10	1
Jardín Botánico, UNAM	21	9 (50)	9 (50)	13 (72)	5 (28)	12 (67)	6 (33)	235	494	2.09	0	13	5
Viveros de Coyoacán	49	16 (36)	29 (64)	44 (98)	1 (2)	37 (82)	8 (18)	255	473	1.86	0	40	4
Bosque de Chapultepec (1ª sección)	64	22 (36)	39 (64)	52 (85)	9 (15)	45 (74)	16 (26)	248	469	1.88	4	50	6
Bosque de Tlalpan	39	14 (40)	21 (60)	30 (86)	5 (14)	30 (86)	5 (14)	259	536	2.09	0	23	12
TOTAL	389	151 (41)	216 (59)	292 (80)	75 (20)	255 (70)	111 (30)						

Se describe la proporción de capturas por sexo, edad y estado reproductivo; en paréntesis se señala el porcentaje de individuos por categoría con respecto al total de individuos evaluados por atributo. Se muestra el promedio de las características morfométricas por sitio. H = hembra, M = macho, A = adulto, J = juvenil, A* = Activo reproductivamente, I = inactivo reproductivamente, LC = largo de cuerpo, IC = índice corporal, y CC= Condición corporal (Tipo 1, 2 y 3)

Cuadro 3

Número de muestras de suero colectadas. Número y porcentaje de muestras seropositivas y seronegativas por sitio de monitoreo

SITIO DE MUESTREO	NO. DE MUESTRAS	POSITIVAS		NEGATIVAS	
			(%)		(%)
Jardín Hidalgo	23	13	(56.5)	10	(43.5)
Parque Margait	15	10	(66.7)	5	(33.3)
Plaza de la Conchita	11	5	(45.5)	6	(54.5)
Parque Masayoshi Ohira	10	5	(44.4)	5	(50.0)
Glorieta América	10	5	(50.0)	5	(50.0)
Museo de las Intervenciones	13	3	(23.1)	10	(76.9)
Parque San Lorenzo	15	3	(20.0)	12	(80.0)
Parque Ecológico el Batán	13	1	(7.7)	12	(92.3)
Parque Tagle	19	9	(47.4)	10	(52.6)
Parque Xicoténcatl	14	7	(50.0)	7	(50.0)
Parque Lincoln	13	0	(0.0)	13	(100)
Jardín de la Bombilla	17	10	(58.8)	7	(41.2)
Parque Luis G. Urbina	14	2	(14.3)	12	(85.7)
Parque Francisco Villa	11	2	(18.2)	9	(81.8)
Jardín Botánico, UNAM	21	8	(38.1)	13	(61.9)
Viveros de Coyoacán	47	8	(17.0)	39	(83.0)
Bosque de Chapultepec (1ª sección)	62	6	(9.7)	56	(90.3)
Bosque de Tlalpan	38	11	(28.9)	27	(71.1)
TOTAL	366	108	(29.5)	258	(70.49)

Cuadro 4

Atributos del paisaje por sitio de monitoreo

	HÁBITAT DISPONIBLE	CONECTIVIDAD Y AISLAMIENTO			IMPACTO ANTROPICO		CALIDAD DE LA MATRIZ			
	Aa (ha)	P 500 (m)	P 1000 (m)	Dpc (m)	P (m)	If	Dc 500 (m/ha)	Dc 1000 (m/ha)	Aa 500	Aa 1000
Jardín Hidalgo	0.58	2	6	225.1	681	2.3	171.0	163.8	3.4	7.3
Parque Margait	0.85	2	3	50.2	809	2.4	118.0	121.5	40.5	36.3
Plaza de la Conchita	0.85	4	6	15.8	562	1.7	162.2	163.3	3.7	1.9
Parque Masayoshi Ohira	1.16	1	3	3.6	983	2.5	89.3	136.2	40.1	22.7
Glorieta América	1.45	3	6	30.6	990	2.8	170.6	167.2	4.4	3.2
Museo de las Intervenciones	1.49	1	3	88.7	977	2.2	149.3	166.2	3.7	10.3
Parque San Lorenzo	1.96	2	3	84.2	1133	2.2	185.9	178.1	8.9	4.4
Parque Ecológico el Batán	2.9	1	3	383.9	1784	2.9	179.2	141.3	0	0.6
Parque Tagle	2.98	1	2	25.0	1040	1.7	141.0	145.8	8.9	5.7
Parque Xicoténcatl	3.7	1	4	88.7	940	1.3	153.8	157.1	8.1	4.0
Parque Lincoln	3.98	5	7	306.8	1345	1.9	179.3	153.4	5.4	19.5
Jardín de la Bombilla	4.8	1	5	26.5	1228	1.5	157.5	150.2	5.7	3.5
Parque Luis G. Urbina	8	1	2	83	1482	1.4	200.2	188.6	5.3	2.7
Parque Francisco Villa	8.06	0	1	587.9	1298	2.7	194.1	189.0	2.2	1.5
Jardín Botánico, UNAM	19.07	2	5	49	4658	3.0	59.2	65.8	65.5	53.8
Viveros de Coyoacán	34.79	1	7	333.5	2868	1.3	146.7	150.8	1.8	3.2
Bosque de Chapultepec (1ª sección)	146	3	7	66.7	5621	1.3	177.8	182.2	1.1	9.8
Bosque de Tlalpan	102	3	5	194.6	10817	2.1	155.6	142.4	11.1	12.5

Aa = área arbolada, P500 = número de poblaciones a 500m, P1000 = número de poblaciones a 1000m, Dpc = distancia a la población más cercana, P = perímetro, If = índice de forma, Dc500 = densidad de calles en 500m, Dc1000 = densidad de calles en 1000m, Aa500= porcentaje de área arbolada en 500m, Aa1000 = porcentaje de área arbolada en 1000m

Cuadro 5

Impacto antropogénico por sitio de monitoreo

	TOLERANCIA AL HUMANO	SUPLEMENTACIÓN ALIMENTICIA	FRECUENCIA VISITANTES /min	FRECUENCIA PERROS /min
Jardín Hidalgo	3	1	5.64	0.18
Parque Margait	1	1	1.39	0.31
Plaza de la Conchita	1	0	2.83	1.25
Parque Masayoshi Ohira	2	1	1.97	0.50
Glorieta América	3	1	4.28	0.17
Museo de las Intervenciones	2	0	4.28	0.17
Parque San Lorenzo	3	1	2.50	1.46
Parque Ecológico el Batán	1	0	0.14	0.00
Parque Tagle	3	1	0.96	0.46
Parque Xicoténcatl	1	1	1.75	0.19
Parque Lincoln	2	1	3.82	1.15
Jardín de la Bombilla	2	1	2.08	0.22
Parque Luis G. Urbina	2	1	2.42	0.69
Parque Francisco Villa	3	1	4.44	1.06
Jardín Botánico, UNAM	1	0	1.17	0.00
Viveros de Coyoacán	3	1	1.71	0.00
Bosque de Chapultepec (1ª sección)	3	1	3.18	0.00
Bosque de Tlalpan	3	1	3.24	0.02

Cuadro 6Atributos poblacionales por sitio de monitoreo

	Densidad Poblacional (individuos/ha)	Tamaño Poblacional
Jardín Hidalgo	15.93	9.24
Parque Margait	4.07	3.46
Plaza de la Conchita	8.61	7.32
Parque Masayoshi Ohira	10.74	12.46
Glorieta América	13.89	20.14
Museo de las Intervenciones	17.41	25.94
Parque San Lorenzo	29.17	57.17
Parque Ecológico el Batán	6.94	20.14
Parque Tagle	5.28	15.73
Parque Xicoténcatl	16.67	61.67
Parque Lincoln	1.67	6.63
Jardín de la Bombilla	11.11	53.33
Parque Luis G. Urbina	5.14	41.11
Parque Francisco Villa	25.00	201.50
Jardín Botánico, UNAM	9.80	186.95
Viveros de Coyoacán	46.54	1619.24
Bosque de Chapultepec (1ª sección)	12.52	1827.25
Bosque de Tlalpan	24.26	3056.67

Cuadro 7.

Desempeño de modelos lineales generalizados. La evaluación estadística incluye el número de parámetros incluidos (K), devianza, Criterio de información de Akaike ($AICc$) y pseudo- R^2 .

Modelo	K	Devianza	$AICc$	Pseudo- R^2
Atributos del paisaje	6	3997.518	173.537	0.4600
Impacto antropogénico	5	6460.162	182.176	0.1274
Atributos poblacionales	2	7355.711	167.028	0.0064

Cuadro 8.

Coficiente de la variable (β), error estándar (EE), intervalo de confianza (IC 95%), χ^2 de Wald y valor de P , asociados a variables incluidas en el MGL que describe los atributos del paisaje de los sitios monitoreados.

Variable	β	EE	IC 95%	χ^2 de Wald	P
Área arbolada	-0.12	0.1003	-0.32 0.069	1.624	0.203
No. poblaciones a 500m	-3.43	3.0815	-9.47 2.609	1.239	0.266
Distancia a población más cercana	-0.07	0.0286	-0.12 -0.014	6.037	0.014
Densidad de calles en 500m	-0.06	0.1284	-0.32 0.183	0.285	0.594
Índice de forma	1.80	7.6571	-13.20 16.812	0.056	0.814

Cuadro 9.

Coeficiente de la variable (β), error estándar (EE), intervalo de confianza (IC 95%), Xi^2 de Wald y valor de P , asociados a variables incluidas en el MGL que describe el impacto antropogénico en los sitios monitoreados.

Variable	β	EE	IC 95%		Xi^2 de Wald	P
Grado de tolerancia al humano (1)	13.019	15.8468	-18.04	44.078	0.675	0.411
Grado de tolerancia al humano (2)	6.372	11.3971	-15.966	28.71	0.313	0.576
Grado de tolerancia al humano (3)*	0 ^a
Reciben suplementación alimenticia	-3.873	13.6378	-30.602	22.857	0.081	0.776
No reciben suplementación alimenticia*	0 ^a
Frecuencia de perros por minuto	-13.394	9.8725	-32.744	5.956	1.841	0.175
No. visitantes por minuto	4.083	3.9399	-3.639	11.805	1.074	0.3

*Valores establecidos en cero debido a que los parámetros son redundantes.

Cuadro 10. Coeficiente de la variable (β), error estándar (EE), intervalo de confianza (IC 95%), Xi^2 de Wald y valor de P , asociados a variables incluidas en el MGL que describe los atributos poblacionales de los sitios monitoreados.

Variable	β	EE	IC 95%		Xi^2 de Wald	P
Densidad poblacional	-0.153	0.4463	-1.027	0.722	0.117	0.732

Cuadro 11.

Coficiente de la variable (β), error estándar (EE), intervalo de confianza (IC 95%), χ^2 de Wald y valor de P , asociados a variables incluidas en el MGL que describe los atributos individuales de los especímenes monitoreados.

Variable	β	EE	IC 95%		χ^2 de Wald	P
Macho	0.218	0.269	-0.312	0.747	0.649	0.421
Hembra*	0 ^a	0.2702 ^a
Inactivo	0.179	.	-0.588	0.947	0.209	0.647
Activo*	0 ^a	0.3916 ^a
Juvenil	-0.481	.	-1.331	0.369	1.232	0.267
Adulto*	0 ^a	0.4337 ^a
Índice Corporal	-0.82	.	-1.779	0.14	2.805	0.094

*Valores establecidos en cero debido a que los parámetros son redundantes.

Cuadro 12

Prueba de t empleada para comparar la media del índice corporal de los individuos seropositivos y seronegativos.

	Prueba T para la igualdad de medias					
	t	gl	Diferencia de medias	Error típico de la diferencia	95% IC	
					Inferior	Superior
Índice Corporal	-1.028	322	-0.03195	0.0310	-0.0931	0.0292

Figura 1. Relación entre la seroprevalencia a OPXV en ardilla gris y la distancia a la población más cercana.

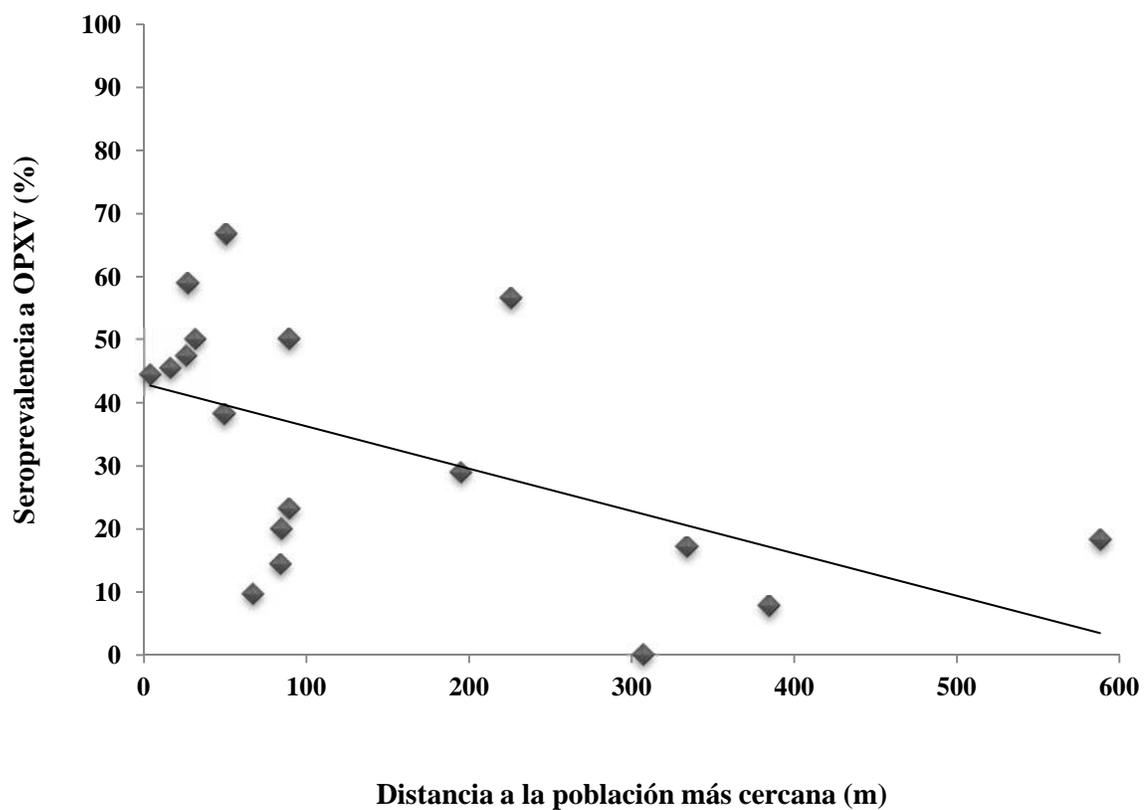


Figura 2. Índice corporal de individuos seropositivos e individuos seronegativos. Las barras de error se construyeron con los valores del error estándar.

