

Variabilidad genética en coipos, *Myocastor coypus*, y su relación con la presión de caza

J. Ignacio TÚNEZ^{1,3}, Marcelo H. CASSINI^{1,2}, M. Laura GUICHÓN¹ & Daniela CENTRON³

¹ Depto. de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján. Rutas 5 y 7 (6700), Luján, Provincia de Buenos Aires, Argentina. ² Fundación Organización PROFAUNA. Av. Corrientes 1145, 4º piso, Dpto. 47 (1043), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. ³ Depto. de Microbiología, Parasitología e inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Paraguay 2155 (1121), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Abstract: Genetic variability in coypus, *Myocastor coypus*, and its relation with hunting pressure.

Genetic variability of coypu in sites that support different hunting pressures was analysed through PCR amplification of RAPD markers. DNA was extracted from tissue samples obtained in five freshwater sites located in Luján zone, north-east of Buenos Aires province, Argentina, between October 1999 and September 2000. Fifty-one RAPD markers were obtained. Forty-nine of these were polymorphic between individuals. The analysis of molecular variance (AMOVA) showed a high genetic variability between sites, which would indicate that individuals from these sites are genetically differentiated. Genetic diversity within each site was negatively correlated with hunting pressure, while a positive correlation between genetic diversity and population size was observed. Genetic distance between immigrants, residents and immigrants-residents were significantly different, showing that immigrant individuals are more related between them than with the rest. It is proposed that in the Pampas Region, where the landscape is fragmented into parcels having agricultural-cattle use, a source-sink dynamic between parcels protected and not protected from hunting pressure is established for the coypu where protected parcels would act as a source of individuals for the not protected ones.

Key words: *Myocastor coypus*, genetic variability, hunting pressure.

Muchas poblaciones de mamíferos se encuentran amenazadas de extinción o han desaparecido a causa de la intensa explotación realizada por el hombre (Mace & Reynolds, 2001). La actividad de caza representa la segunda amenaza a las especies de mamíferos, después de la degradación del hábitat (Mace & Reynolds, 2001). Sin embargo, la explotación de fauna también representa una importante fuente de alimento y de ingreso económico para pobladores rurales, particularmente en el Neotrópico (Robinson & Redford, 1991). El coipo o nutria *Myocastor coypus* es un roedor grande que se distribuye en ambientes acuáticos del sur de Sudamérica. En Argentina, el coipo es un importante recurso económico, ocupando el primer lugar en las exportaciones legales de fauna silvestre (Marchetti & Morello, 1991; Bárbaro, 1994). Sólo una pequeña cantidad de pieles proviene de criaderos, mientras que el 98% de las pieles comercializadas se extraen de poblaciones silvestres (Zacagnini & Venturino, 1993). Este hecho ha llevado a la sobreexplotación de poblaciones de coipo en algunas partes de su rango nativo (Gosling & Baker, 1991), por lo que cons-

tituye una de las especies que requiere de programas de manejo para lograr una explotación sustentable en Argentina (Holdo & García Fernández, 1995).

La perdurabilidad de las poblaciones bajo explotación depende del efecto de las estrategias de manejo sobre la demografía de la especie (Taylor & Dunstone, 1996; Boyce *et al.*, 1999). El efecto de la caza sobre la variabilidad genética de las poblaciones, mediado por la disminución del tamaño poblacional, es uno de los principales aspectos demográficos que puede afectar la viabilidad de poblaciones silvestres. La disminución de la diversidad genética puede deberse a diversos factores como endogamia, deriva genética y cuellos de botella, cuyos efectos se incrementan cuando el tamaño poblacional disminuye (Frankham, 1996). Hasta el momento, no se conocen estudios donde se haya estudiado la estructura genética de poblaciones o grupos sociales de coipo.

Los objetivos de este estudio fueron (1) poner a punto la técnica *RAPD* (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (Williams, 1990) para identi-

ficar marcadores para el coipo y (2) analizar la estructura genética en distintos sitios utilizados por el coipo que reciben presiones de caza diferentes. La técnica *RAPD* se basa en la amplificación al azar de fragmentos de ADN por *PCR* (*Polymerase Chain Reaction*). Esta técnica permite el procesamiento de una gran cantidad de muestras con un costo bajo de tiempo y dinero y requiere solo una pequeña cantidad de ADN. Debido a que el nivel de polimorfismo detectado por los marcadores *RAPD* es frecuentemente elevado, estos son útiles en la descripción de la estructura genética (Bowditch, 1993).

Se trabajó en cinco sitios, dos con presión de caza baja, dos con presión de caza alta y un quinto con una presión intermedia. La hipótesis que se puso a prueba fue que los sitios bajo presión de caza debían mostrar una menor variabilidad genética por el efecto de la caza sobre los números poblacionales, a menos que una elevada tasa de inmigración aumentara la diversidad genética.

MATERIALES Y METODOS

Sitios de estudio

El trabajo se llevó a cabo en cinco cuerpos de agua ubicados en la zona de Luján, al nordeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina, entre octubre 1999 y septiembre 2000. Esta es una zona típica de la región de la Pampa Ondulada en la que la vegetación natural, caracterizada por la estepa gramínea, ha sufrido importantes modificaciones y fue reemplazada por especies exóticas sembradas como cultivos, pasturas o forestaciones o que crecen de manera espontánea (Cabrera & Zardini, 1993). El clima es templado y húmedo, con una temperatura media de 9.1 °C en invierno y 23.8 °C en verano y una precipitación media anual de 944 mm (Goldberg *et al.*, 1995).

El primer sitio de estudio, Ruiz (34° 12' S, 59° 16' O), se encuentra en un segmento de arroyo de 1,5 km de largo. El segundo sitio, Luján (34° 35' S, 59° 04' O), está formado por dos pequeños estanques (0,6 y 0,08 has) separados por una porción de arroyo de 100 m de largo. Los otros tres sitios, Jáuregui, Ratti-1 y Ratti-2 (34° 35' S, 59° 11' O) son tres lagunas (4,3; 2,3 y 4 has, respectivamente) resultantes de la modificación de cursos de agua naturales. Jáuregui se encuentra ubicada a 4 km de los sitios Ratti-1 y Ratti-2, que están a su vez separados por 200 m. Las tres lagunas están conectadas con el río Luján por arroyos o canales de menos de 100 m de longitud en el caso de Ratti-1 y Ratti-2, y de 500 m de longitud en el caso de Jáuregui.

Existió una diferente presión de caza entre sitios, siendo elevada en Ratti-1 y Ratti-2, intermedia en Luján y nula-baja en Ruiz y Jáuregui. Estos resultados fueron obtenidos durante las campañas de captura viva y en una o dos visitas a cada sitio entre campañas mediante la medición en cada sitio de (1) el número de madrigueras cavadas utilizando una pala, (2) la presencia de cazadores, y (3) signos de actividad de cazadores mediante el conteo de cartuchos vacíos (Guichón & Cassini, 2005).

Recolección de muestras

Se realizaron campañas de captura viva con frecuencia estacional en la primavera (Oct -Nov) de 1999 y en el verano (Ene-Mar), el otoño (Abr-Jun) y el invierno (Jul-Sep) de 2000 en todos los sitios de estudio (métodos descritos en Guichón *et al.*, 2003a; Guichón *et al.*, 2003b). Las sesiones de captura tuvieron una duración de entre 4 y 11 días y fueron diseñadas para capturar todos los coipos presentes en cada sitio, finalizando la campaña cuando la proporción de recapturas excedía el 80% del total de capturas por dos días consecutivos. Las trampas, ubicadas en la abertura de las cuevas o en senderos o sitios de forrajeo cercanos a estas fueron cebadas con manzana antes del atardecer, y chequeadas antes del amanecer. Las observaciones entre sesiones de captura indicaron que la gran mayoría de los coipos residentes en cada sitio eran marcados bajo este régimen (Guichón *et al.*, 2003b). Los coipos fueron inmovilizados con una inyección intramuscular que contenía una combinación de clorhidrato de ketamina (4 mg/kg) y clorhidrato de xylazina (0.5 mg/kg) (Bó *et al.*, 1994) y se les tomó una pequeña muestra de tejido de la oreja mientras se procedía a su marcado mediante caravanas numeradas de distinto color y forma. Los individuos eran clasificados como inmigrantes o residentes sobre la base de su historia de captura en el sitio y el peso en la primera captura. En la primera campaña de captura todos los individuos fueron considerados residentes. En las siguientes campañas, los individuos capturados por primera vez con un peso corporal < 1,5 kg fueron considerados como nacidos en el lugar entre campañas de captura, basándonos en Brown (1975: los juveniles pesaron < 1,25 kg) y nuestros datos de recaptura (los juveniles que pesaron 0,2-1,5 kg en la primera captura pesaron 1,1-2,5 kg cuando eran recapturados, mientras que no se capturó ninguna cría nueva de 1,5-2 kg). Los demás individuos capturados por primera vez fueron considerados inmigrantes (Guichón *et al.*, 2003b).

Métodos moleculares

Se seleccionaron muestras de tejido de 24 individuos de los cinco sitios: ocho de Ruiz ($n = 8$), dos de Luján ($n = 2$), siete de Jáuregui ($n = 7$), tres de Ratti-1 ($n = 3$) y cuatro de Ratti-2 ($n = 4$). La extracción del ADN se inició disgregando el tejido y colocándolo en un tubo eppendorf con 500 μ l de buffer de extracción (10 mM Tris-Cl, 0.1 M EDTA, 20 μ g/ml de RNasa, 0.5% SDS, 120 μ g/ml de proteinasa K, pH 8.0). Posteriormente se incubó la suspensión en un baño a 50°C por 16 hs. (Sambrook et al., 1989). Al día siguiente se completó la extracción utilizando el método de fenol-cloroformo (Sambrook et al., 1989). Posteriormente el ADN fue cuantificado en espectrofotómetro UV/VIS (Hitachi, modelo U-2001) a 260/280 nm. Durante la puesta a punto de la técnica se utilizaron 10 cebadores (serie A01 a a10) (Biodynamics S.R.L., Argentina) y se probaron distintas concentraciones de todos los reactivos necesarios para la PCR para lograr la puesta a punto de la técnica. La mezcla de reacción (volumen final 25 μ l) consistió en: 35 ng de ADN, 100 μ M de cada dNTP, 200 μ M de cebador, buffer de reacción 1X, 3 mM de MgCl₂ y 1,5 unidades de Taq ADN polimerasa (Promega). Cada reacción fue cubierta con 30 μ l de aceite mineral para prevenir la evaporación. Para la amplificación, las muestras fueron sometidas a 1 ciclo de: 2,5 minutos a 94° C, 1 minuto a 35° C y 2 minutos a 72° C, seguido de 44 ciclos de: 1 minuto a 94° C, 1 minuto a 35° C y 2 minutos a 72° C en un termociclador Perkin Elmer Cetus (Emeryville, Calif). Los fragmentos generados por la amplificación fueron separados en geles de agarosa al 1%, teñidos con Bromuro de Etidio y visualizados y fotografiados bajo luz UV. Para poder comparar los patrones de bandas obtenidos en los distintos geles y poner a prueba la replicabilidad de los resultados, seis de las veinticuatro muestras analizadas (el 25%) fueron amplificadas y corridas electroforéticamente por duplicado, obteniéndose siempre el mismo patrón de bandas para cada una de las seis muestras, lo que demuestra una replicabilidad de los resultados del 100 %.

Análisis de datos

Los datos de 51 marcadores, fueron incorporados en una matriz de ceros (ausencia de la banda) y unos (presencia de la banda) en el gel de agarosa. Las bandas de igual tamaño fueron interpretadas como homólogas (Gugerli et al., 1999). Para estimar la variabilidad genética entre los sitios de estudio se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) (Excoffier et al., 1992), utilizando el programa Arlequín 2.000 (Schneider et al., 2000). A partir de la matriz de

ceros y unos se calculó una matriz de distancia genética de Nei (Nei, 1972), utilizando el programa Rapdistance 1.0 (Armstrong, 1996). Esta matriz fue la base para los análisis subsecuentes.

Para comparar la distancia genética entre individuos inmigrantes e individuos residentes, se obtuvieron valores de distancia genética entre:

(1) pares de inmigrantes, (2) pares de residentes y (3) pares de un inmigrante y un residente. Estas comparaciones incluyeron 5, 17 y 27 valores de distancia genética, respectivamente. Para este análisis solo se utilizaron los datos de individuos de los sitios Jáuregui, Ratti-2 y Ruiz, debido a que las dos muestras de Luján eran sólo de individuos residentes y en las tres muestras de Ratti-1 sólo había un inmigrante. La distancia genética dentro de cada sitio fue estimada mediante el índice de diversidad de Shannon-Wiener (Lewontin, 1973): $H_s = -\sum p_i \cdot \log_2 p_i$, donde p_i es la frecuencia de cada marcador RAPD en cada sitio de muestreo (Dawson et al., 1995). Luego se realizó un análisis de correlación de Spearman entre los valores del índice de diversidad y presión de caza y entre los valores del índice de diversidad y el tamaño poblacional en cada sitio. Para esto se utilizaron los datos de tamaño poblacional y presión de caza estimados por Guichón & Cassini (2005).

RESULTADOS

Se obtuvo amplificación con seis de los diez cebadores utilizados (A01, A03, A06, A08, A09 y A10), dando como resultado 51 marcadores RAPD de un tamaño entre 200 y 1500 pb. Cuarenta y nueve de estos marcadores resultaron polimórficos entre todos los individuos (Fig. 1).

El análisis de varianza molecular de estos marcadores reveló una elevada variabilidad genética entre sitios (AMOVA, $\Phi_{ST} = 0,39$, $n = 24$; $P = 0,001$), lo que indicaría que los individuos de estos sitios se encuentran genéticamente diferenciados.

La diversidad genética estuvo negativamente correlacionada con la presión de caza (Spearman, $r_s = -0,90$, $n = 5$; $P = 0,023$), mientras que se observó una correlación positiva entre diversidad genética y tamaño poblacional (Spearman, $r_s = 0,97$, $n = 5$; $P = 0,012$). Por otro lado, no se obtuvo una correlación significativa entre los valores del índice de diversidad y el tamaño de muestra utilizado (Spearman, $r_s = 0,60$, $n = 5$; $P = 0,28$), lo que indica que los resultados anteriores no son la resultante de un artefacto en el número de individuos analizados de cada sitio.

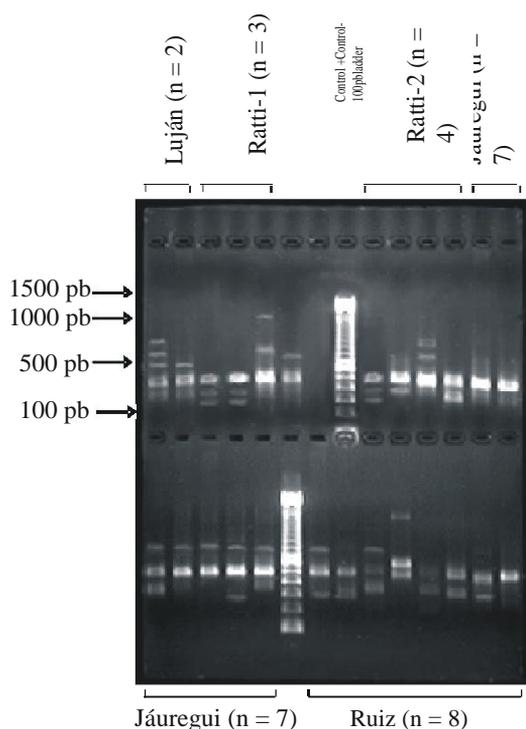


Fig. 1. Gel de agarosa 1% mostrando las bandas obtenidas mediante la amplificación por PCR del ADN de los 24 individuos analizados utilizando el cebador A10.

La distancia genética promedio entre inmigrantes fue de $0,10 \pm 0,04$ ($n = 5$); entre residentes de $0,22 \pm 0,07$ ($n = 17$) y entre inmigrantes y residentes de $0,26 \pm 0,10$ ($n = 27$). Estas distancias fueron significativamente diferentes entre sí (prueba de Kruskal-Wallis, $H = 10,43$; $P = 0,005$).

DISCUSION

En el presente estudio se utilizó la técnica de marcadores *RAPD* con el objetivo de analizar la estructura genética del coipo en distintos sitios. El análisis de varianza molecular indicó que la variabilidad entre los sitios estudiados es grande (AMOVA, $\Phi_{ST} = 0,39$, $n = 24$; $P = 0,001$). Esta proporción de variabilidad es similar a la encontrada en otro roedor, *Peromyscus maniculatus*, para el cual aproximadamente el 36% de la diversidad fue encontrada entre poblaciones, utilizando la misma técnica (Vucetich *et al.*, 2001).

Lynch & Milligan (1994) han propuesto que el sesgo en la estimación de parámetros

poblacionales mediante el uso de marcadores *RAPD* puede ser despreciable si se restringe el análisis a marcadores con una frecuencia observada menor a $1 - 3/N$, donde N es el número de individuos analizados. Sin embargo, en dos estudios recientes (Bartish *et al.*, 1999; Vucetich *et al.*, 2001) no se encontraron diferencias en los resultados obtenidos utilizando todo el conjunto de marcadores o solo aquellos que cumplían con el criterio propuesto por Lynch y Milligan (1994). Bartish *et al.* (1999) concluyen que cuando se trabaja con pequeños tamaños muestrales, como ocurre en nuestro caso, la utilización del criterio de Lynch & Milligan (1994) podría llevar a la subestimación de la diversidad genética. Teniendo en cuenta esto último podemos decir que la técnica aplicada en este estudio es un método confiable para analizar la estructura genética, si bien está limitada por el pequeño tamaño de la muestra analizada.

Los modelos clásicos de poblaciones bajo explotación, consideran que los animales extraídos son individuos resultantes de la tasa de reproducción dentro del área donde se realiza la caza y no tienen en cuenta que estos podrían ser individuos provenientes de otras poblaciones (Caughley & Sinclair, 1994). Modelos más recientes incorporan la estructura espacial de las poblaciones y enfatizan el rol de la dispersión entre sitios con diferente presión de caza, como por ejemplo mediante la aplicación de modelos fuente-sumidero a poblaciones bajo explotación (Tuck & Possingham, 1994; Lundberg & Jonzén, 1999; Novaro *et al.*, 1999; Milner-Gulland, 2001). En nuestros sitios de estudio, a pesar de que la caza no afectó la tasa de reproducción de los coipos, la mortalidad en los sitios con caza fue tan elevada que la mayoría del reclutamiento se debió a la inmigración (Guichón & Cassini, 2005). Es probable que bajo este contexto se haya establecido una dinámica de tipo fuente-sumidero entre sitios protegidos y no protegidos de la caza. Contrariamente a lo esperado, en este estudio la inmigración no trajo aparejado un aumento en la diversidad genética. Esto pudo deberse a un efecto no deseado del tamaño muestral o que los inmigrantes provienen de la misma población y quizás de la misma sub-población. En los coipos, la dispersión está asociada a los cursos de agua por lo que es posible que los inmigrantes lleguen desde la población más cercana conectada por ríos y arroyos. Adicionalmente, los individuos dispersantes podrían ser parientes, como parece ocurrir en otras especies de roedores cavio-morfos (Herrera & Macdonald, 1987; Branch *et al.*, 1993).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a L. Ratier, P. Jeric y B. Orman por su asistencia en los trabajos de laboratorio. A P. Arnedillo, M. Bello, V. Benítez, A. Bianchi, M. Borgnia, M. Cristiano, L. Fasola, F. Milesi, C. Sagario, P. Stampella, quienes colaboraron en las campañas de muestreo. A M. Kevy e I. Sterverlynk quienes nos permitieron realizar parte de este estudio en sus propiedades. El estudio fue financiado por la Universidad Nacional de Luján, la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

BIBLIOGRAFIA

- Armstrong, J. 1996. The Rapdistance Package, version 1.04. Australian University, Canberra. Australia.
- Bárbaro, N. O. 1994. Perfil ambiental de la Argentina. XIX Asamblea General de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, Buenos Aires, Argentina.
- Bartish, I. V., N. Jeppsson & H. Nybom. 1999. Population genetic structure in the dioecious pioneer plant species *Hippophae rhamnoides* investigated by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Mol. Ecol.* 8: 791-802.
- Bó, R. F., F. Palomares, J. F. Beltrán & S. Moreno. 1994. Immobilization of coypus (*Myocastor coypus*) with ketamine hydrochloride and xylazine hydrochloride. *J. of Wild. Dis.* 30: 596-598.
- Boyce, M. S., A. R. E. Sinclair & G. C. White. 1999. Seasonal compensation of predation and harvesting. *Oikos* 87: 419-426.
- Bowditch, B. 1993. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers in comparative genome studies. En: E. Zimmer, T. White, R. Cann & A. Wilson (eds.), *Molecular evolution: producing the biochemical data*, pp. 294-309, Academic Press, San Diego, USA.
- Branch, L. C., D. Villareal & G. S. Fowler. 1993. Recruitment, dispersal, and group fusion in a declining population of the plains vizcacha (*Lagostomus maximus*; Chinchillidae). *J. Mammal.* 74: 9-20.
- Brown, L. N. 1975. Ecological relationships and breeding biology of nutria (*Myocastor coypus*) in the Tampa, Florida, area. *J. Mammal.* 56: 928-930.
- Cabrera, A. L. & E. M. Zardini. 1993. *Manual de la flora de los alrededores de la Provincia de Buenos Aires*. Editorial ACME, Buenos Aires, Argentina, 198 pp.
- Caughley, G. & A. R. E. Sinclair. 1994. *Wildlife Ecology and Management*. Blackwell University Press, Oxford, United Kingdom, 656 pp.
- Dawson, I., A. Simons, R. Waugh & M. Powell. 1995. Diversity and genetic differentiation among subpopulations of *Glycerhiza sepium* revealed by PCR-based assays. *Heredity* 74: 10-8.
- Excoffier, L., P. Smouse & J. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Frankham, R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Cons. Biol.* 10:1500-1508.
- Goldberg, S., I. Cirera, M. Parella, A. Benítez, L. Bulos & A. Troncoso. 1995. Caracterización climática y agroclimática de la cuenca del Río Luján. En: F. Momo (ed.), *Anales de I Jornadas sobre la Cuenca del Río Luján*, pp. 13-19. Universidad Nacional de Luján, Luján, Argentina.
- Gosling, L. M. & S. J. Baker. 1991. Coypu. En: G. B. Corbet & S. Harris (eds.), *Handbook of British mammals*, pp. 267-275. Third edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford, USA.
- Gugerly, F., K. Eichenberger & J. Schneller. 1999. Promiscuity in populations of the cushion plant *Saxifraga oppositifolia* in the Swiss Alps as inferred from random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Mol. Ecol.* 8: 453-461.
- Guichón, M. L., M. Borgnia, C. Fernández Righi, G. Cassini & M. H. Cassini. 2003a. Social behavior and group formation in the coypus (*Myocastor coypus*) in the Argentinean pampas. *J. Mammal.* 84: 254-262.
- Guichón, M. L., C. P. Doncaster & M. H. Cassini. 2003b. Population structure of coypus (*Myocastor coypus*) in their region of origin and comparison to introduced populations. *J. Zool., Lond.* 261: 1-8.
- Guichón, M. L. & M. H. Cassini. 2005. Population parameters of indigenous populations of *Myocastor coypus*: the effect of hunting pressure. *Acta Theriol.* 50: 225-232.
- Herrera, E. A. & D. W. Macdonal. 1987. Group stability and the structure of a capybara population. *Symp. Zool. Soc. London.* 58: 115-130.
- Holdo, R. & J. García Fernández. 1995. *Identificación de prioridades para la conservación y manejo de la fauna silvestre argentina*. Fundación para la Conservación de las Especies y el Medio Ambiente, Buenos Aires, Argentina, 312 pp.
- Lewontin, R. 1973. The apportionment of human diversity. *Evol. Biol.* 6: 381-398.
- Lundberg, P. & N. Jonzén. 1999. Optimal population harvesting in a source-sink environment. *Evol. Ecol. Res.* 1: 719-729.
- Lynch, M. & B. Milligan. 1994. Análisis de population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol.* 3: 91-99.
- Mace, G. M. & J. D. Reynolds. 2001. Exploitation as a conservation issue. En: J. D. Reynolds, G. M. Mace, K. H. Redford & J. G. Robinson (eds.), *Conservation of exploited species*, pp. 3-15, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Marchetti, B. & J. Morello. 1991. *Sustainable development in Argentina*. Centro de estudios avanzados de la Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina, 159 pp.
- Millner-Gulland, E. J. 2001. The exploitation of spatially structured populations. En: J. D. Reynolds, G. M. Mace, K. H. Redford & J. G. Robinson (eds.), *Conservation of exploited species*, pp. 87-109, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106: 283-292.
- Novaro, A. J., K. H. Redford & R. E. Bodmer. 1999. Effect of hunting in source-sink systems in the Neotropics. *Cons. Biol.* 14: 713-721.
- Robinson, J. G. & K. H. Redford. 1991. *Neotropical wildlife use and conservation*. The University of Chicago Press, Chicago, USA, 520 pp.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch & T. Maniatis. 1989. DNA extraction from mammalian cells. En: J. Sambrook, E. F. Fritsch & T. Maniatis (eds.), *Molecular cloning. A laboratory manual*, pp. 9.16, Second edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA.
- Schneider, S., D. Roessli & L. Excoffier. 2000. Arlequin ver. 2.000: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Taylor, V. J. & N. Dunstone. 1996. *The exploitation of mammal populations*. Chapman & Hall, London, 256 pp.
- Tuck, G. N. & H. P. Possingham. 1994. Optimal harvesting strategies for a metapopulation. *Bull. Mathem. Biol.* 56: 107-127.
- Vucetich, L. M., J. A. Vucetich, C. P. Joshi, T. A. Waite & R. O. Peterson. 2001. Genetic (RAPD) diversity in *Peromyscus maniculatus* populations in a naturally fragmented landscape. *Mol Ecol.* 10: 35-40.
- Williams, J. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Ac. Res.* 18: 6531-6535.
- Zacagnini, M. E. & J. J. Venturino. 1993. La fauna silvestre en el contexto agropecuario entrerriano: problemáticas y necesidades de investigación para su adecuado manejo. INTA Estación Experimental Agropecuaria Paraná, Serie Misceláneas 9, Argentina, 49 pp.

Recibido: 23-VIII-2004

Aceptado: 31-V-2005