



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD  
ECOLOGÍA

**RELEVANCIA ECOLÓGICA DE LAS INTERACCIONES PLANTA – MAMÍFERO PARA LA  
DIVERSIDAD DEL BOSQUE HÚMEDO TROPICAL**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTORA EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**ANGELA ANDREA CAMARGO SANABRIA**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. MIGUEL MARTÍNEZ RAMOS**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
Y SUSTENTABILIDAD, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DR. FRANCISCO JAVIER ESPINOSA GARCÍA**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS  
Y SUSTENTABILIDAD, UNAM

**DR. DAVID VALENZUELA GALVÁN**  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIODIVERSIDAD Y  
CONSERVACIÓN, UAEM

**MÉXICO, D.F. ENERO, 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

Dr. Isidro Ávila Martínez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 12 de octubre de 2015, aprobó el jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **Doctora en Ciencias** de la alumna **Camargo Sanabria Angela Andrea** con número de cuenta **511451421**, con la tesis titulada **"Relevancia ecológica de las interacciones planta-mamífero para la diversidad del bosque húmedo tropical"**, bajo dirección del **Dr. Miguel Martínez Ramos**, Tutor principal:

Presidente: Dra. Ellen Andresen  
Vocal: Dr. Leonel López Toledo.  
Secretario: Dr. Francisco Javier Espinosa García.  
Suplente: Dra. Cristina Martínez Garza  
Suplente: Dr. David Valenzuela Galván

Sin otro particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 03 de diciembre de 2015

*M. del Coro Arizmendi*  
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA  
COORDINADORA DEL PROGRAMA



## AGRADECIMIENTOS

---

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por contribuir a mi formación académica y por el apoyo económico recibido a través del PAEP para asistir a eventos internacionales.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de manutención que me permitió dedicar tiempo completo a mis estudios doctorales durante cuatro años.

A las siguientes instituciones y programas por el apoyo económico para la realización de mi proyecto de investigación:

- Beca para Jóvenes Científicos del Programa Hombre y Biósfera de la UNESCO (2013).
- Beca “The Emily-Holmes Scholarship” del Royal Botanic Gardens, Kew (2013).
- Apoyos FE005 de la CONABIO, CN-09-347 del Programa UC-Mexus Conacyt y becas del Consejo de la Investigación Científica de la UMSNH (2013 y 2014) otorgados al Dr. Eduardo Mendoza.
- Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-UNAM) IN21371 otorgado al Dr. Miguel Martínez Ramos.

A mi tutor, Dr. Miguel Martínez Ramos y a los miembros de mi comité tutorial, Dr. Francisco J. Espinosa García y Dr. David Valenzuela Galván por su seguimiento y valiosos comentarios.



## AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

---

El posgrado fue una experiencia de aprendizaje que no sólo me condujo a la presentación de este documento y a la obtención de un título de doctorado, sino que fue un momento de mi vida que me permitió madurar como persona, cosechar amistades y crecer como profesional. Todas las personas que conocí en este camino aportaron de una u otra forma a los aprendizajes y anécdotas que recordaré con mucho cariño en el futuro. En especial quiero agradecer:

A Eduardo, quien más que mi asesor ha sido mi consejero y amigo. Le agradezco su enorme colaboración y su atento seguimiento durante todos estos años, así como las oportunidades que me dio para desenvolverme en otros ámbitos. Eres un gran ejemplo de trabajo y honestidad. Espero que nuestra amistad continúe y podamos seguir colaborando como colegas en el futuro cercano.

A Francisco porque además de sus acertados comentarios como miembro de mi comité tutorial, siempre estuvo disponible para atenderme en su oficina, escucharme y aconsejarme en aspectos más allá del desarrollo del proyecto.

Al jurado de esta tesis, los doctores, Leonel López-Toledo, Ellen Andresen y Cristina Martínez-Garza por los comentarios que mejoraron todo el documento y en especial, los manuscritos por enviar a las revistas.

A Gilberto Jamangapé por ser más que un guía en campo, mi asesor en la toma de datos. A su familia por hacer la vida en Loma mucho más agradable.

A Anel Dueñas y Juan B. Godoy por su enorme colaboración en el laboratorio y en campo y por hacer las estadías en la selva mucho más divertidas.

A Yolanda García y a Yesenia Martínez por su orientación y ayuda con los protocolos para realizar los análisis de metabolitos secundarios.

Al Dr. Wolfgang Stuppy por su aval para recibir la beca del Royal Botanic Gardens, Kew.

A los investigadores que de una u otra forma solucionaron dudas que surgieron a lo largo de este proyecto: Dr. Horacio Paz, Dr. Alberto Gómez-Tagle (Jr.), Dr. Guillermo Ibarra, en México y Dres. Francisco Nájera Albendín y Rodrigo Rico Gómez, en España.

A Dolores, Amaranta y Leonarda por la ayuda en el tortuoso camino de los trámites en la UNAM.

A los compañeros del Laboratorio de Ecología de Poblaciones y Comunidades Tropicales por la compañía, por los “tips” y por dejarme dormir la siesta. Agradezco a los que me dieron la bienvenida y con los que continué este proceso: Pachi, Ale, Su, Juan Carlos, Pauloc; a los que llegaron a medio camino: Aline, Iván, Muench, Lili, David y Laura; y en especial a Saúl, por su alegría que animó el trabajo en el lab.

A los amigos que hicieron de estos más de cinco años una experiencia de enorme aprendizaje. Porque me escucharon, cuidaron, me hicieron reír y aconsejaron: Pachi, Ale y Romeo. En especial a Pachi porque aún en la distancia estás ahí cada vez que te necesito.

A las amigas de lejos que durante todos estos años siguen compartiendo conmigo cada momento de alegría o angustia existencial: Adriana en Colombia y Adri en USA.

A todas las personas que conocí (o reencontré) en la UNAM campus Morelia: Pili, Nicasio, Irais, Edison, Angy, Dani, Coral y Pachito, por su amistad.

A mi familia política mexicana por brindarme un hogar.

A mi compañero de vida, Daniel, por ser mi soporte en todo sentido, por siempre darme perspectiva y colaborar en todo lo que le fue posible.

A mi mami, mi papi y mis hermanos por apoyarme en este y otros proyectos, por sus sacrificios y por acompañarme en mente y corazón hasta el final.

A México, por todo lo que me ha dado en estos años de residencia y por el futuro que me espera.

*Dedico esta tesis a mis padres,  
a mis hermanos  
y a los que vienen detrás,  
mis sobrinos.*

# ÍNDICE

---

<b>RESUMEN</b>	16
<b>ABSTRACT</b>	18
<b>CAPÍTULO I: Introducción General</b>	
La defaunación contemporánea	21
Impactos de la defaunación sobre las interacciones planta-mamífero en los bosques tropicales	22
<b>OBJETIVOS</b>	28
<b>CAPÍTULO II</b>	
Interactions between terrestrial mammals and the fruits of two Neotropical rainforest tree species	29
<b>CAPÍTULO III</b>	
Experimental defaunation of terrestrial mammalian herbivores alters tropical rainforest understorey diversity	56
<b>CAPÍTULO IV</b>	
Patrones de remoción de semillas: el papel de los atributos químicos y el tamaño de los mamíferos granívoros	77
<b>CAPÍTULO V: Discusión General y Conclusiones</b>	
Relevancia de las interacciones planta-mamífero en los bosques tropicales en el contexto de la defaunación	110
Perspectivas de investigación	114
<b>LITERATURA CITADA (Capítulos I y V)</b>	118



# LISTA DE FIGURAS

---

## CAPÍTULO I

**Figura 1.** Procesos y factores (que tienen lugar en el sotobosque) implicados en la organización de la comunidad arbórea a escala local. Una semilla que llega al suelo del bosque, proveniente de la lluvia de semillas local o foránea, germina, se establece, y se recluta incorporándose a la comunidad regenerativa (plántulas y brinzales), y luego a la comunidad de árboles adultos. El paso a través de los procesos de dispersión, germinación y reclutamiento es filtrado por factores bióticos y abióticos y depende igualmente de los atributos funcionales de los frutos, las semillas y las plántulas.

## CAPÍTULO II

**Fig. 1** Rarefaction curves showing accumulated species richness of mammal ensembles recorded at *L. platypus* and *P. sapota* focal trees in 2014. The vertical dashed line indicates sampling effort at which the rarefied richness comparison was made. Black and gray hyphens correspond to 95% confidence intervals. Continuous lines in accumulation curves correspond to extrapolated species richness. “★” signs indicate Jack1 estimations of species richness for each curve.

**Fig. 2** Mammals recorded interacting with fruits of focal trees of *Pouteria sapota* and *Licania platypus* on the forest floor of the tropical rain forest in the Montes Azules Biosphere Reserve in the state of Chiapas, Mexico. From left to right: (first row) *Conepatus semistriatus*, *Cuniculus paca*; (second row) *Dasyprocta punctata*, *Didelphis marsupialis*; (third row) *Eira barbara*, *Nasua narica*; (fourth row) *Pecari tajacu*, *Tapirus bairdii*.

**Fig. 3** Ordination of mammal species interacting with fruits of *L. platypus* and *P. sapota* focal trees in the 2014 fruiting season. Stress = 0.072. Ellipses represent 0.95 confidence intervals. Species codes: Cose = *Conepatus semistriatus*, Cupa = *Cuniculus paca*, Dapu = *Dasyprocta punctata*, Dima = *Didelphis marsupialis*, Eiba = *Eira barbara*, Nana = *Nasua narica*, Peta = *Pecari tajacu*, Taba = *Tapirus bairdii*.

**Fig. 4** Frugivore ensemble recorded in *L. platypus* (top) and *P. sapota* (bottom). Arrow thickness indicates the strength of the interaction. Species codes: Cose = *Conepatus*

*semistriatus*, Cupa = *Cuniculus paca*, Dapu = *Dasyprocta punctata*, Dima = *Didelphis marsupialis*, Eiba = *Eira barbara*, Nana = *Nasua narica*, Peta = *Pecari tajacu*, Taba = *Tapirus bairdii*. The box in the upper right corner shows some examples of IS values.

**Figure S1.** Location of the study area in the state of Chiapas, southeast Mexico. MABR = Montes Azules Biosphere Reserve.

**Figure S2.** Plot illustrating the approach followed to find times to group individual pictures. The minimum time where the variable number of events reached a plateau was chosen to group pictures and is indicated in the figure by an arrow. Grouping times for each mammal species in each fruiting season are shown in Table S2.

**Figure S3.** Rarefaction curves showing accumulated species richness of mammal ensembles recorded at *L. platypus* focal trees in 2013 and 2014. The vertical dashed line indicates sampling effort at which the rarefied richness comparison was made. Black and gray hyphens correspond to 95% confidence intervals. Continuous lines in accumulation curves correspond to extrapolated species richness. “★” signs indicate Jack1 estimations of species richness for each curve estimator.

**Figure S4.** Ordination of mammal species recorded at *L. platypus* and *P. sapota* trees in 2014 fruiting season. Stress = 0.070. Ellipses represent 0.95 confidence intervals. Species code: Cose = *Conepatus semistriatus*, Cupa = *Cuniculus paca*, Dapu = *Dasyprocta punctata*, Dima = *Didelphis marsupialis*, Eiba = *Eira barbara*, Lepa = *Leopardus pardalis*, Lewe = *Leopardus weidii*, Mate = *Mazama temama*, Nana = *Nasua narica*, Peta = *Pecari tajacu*, Prlo = *Procyon lotor*, Taba = *Tapirus bairdii*.

### CAPÍTULO III

**Figure 1.** Temporal changes in (a) survival probability and (b) tree seedling/sapling recruitment among treatments for the three periods of study (values come from Jolly-Seber open population models  $\pm 1$  SE). C = control plot, PE = partial enclosure and TE = total enclosure. (\*) indicates significant differences compared with control ( $p < 0.05$ ).

**Figure 2.** Plant density for each treatment estimated using Jolly-Seber open population models for 0, 35, 46 and 60 months after experiment was initiated in Montes Azules Biosphere Reserve southern Mexico. C = control plot, PE = partial enclosure, TE = total enclosure. (\*) indicates significant differences compared with control ( $p < 0.05$ ).

**Figure 3.** Rarefaction curves showing changes in species richness between 2008 and 2013 in each of the experimental treatments. Continuous lines represent 95% confidence intervals. Vertical lines show the minimum number of individuals found in any treatment.

**Figure 4.** Initial (2008) and final (2013) abundances of 11 plant species present in all treatments of the experiment of mammalian defaunation conducted in Montes Azules Biosphere Reserve. C = control plot, PE = partial enclosure, TE = total enclosure. Continuous black line corresponds to changes directly proportional to initial abundance (slope = 1). Only the slope of TE plots is significantly different from that corresponding to C plots. Points are slightly shifted to avoid complete overlap among them. A full list of species used for this analysis is provided in electronic supplementary material (table S2).

**Figure S1.** Geographic location of the study area within the State of Chiapas, southeast Mexico. MABR = Montes Azules Biosphere Reserve. Each black circle in the left-bottom image indicates the location of the experimental cluster of plots (triplets). Image taken from Google Earth.

**Figure S2.** Rank-abundance curves for tree seedling species in each of the experimental mammal defaunation treatments (plots pooled) for 2008 and 2013 years. The dotted line indicates that more than one species occupy that level of abundance. Key to species names: Amho = *Ampelocera hottlei*, Bral = *Brosimum alicastrum*, Brco = *Brosimum costaricanum*, Cael = *Castilla elastica*, Digu = *Dialium guianense*, Faoc = *Faramaea occidentalis*, Inga = *Inga pavoniana*, Inpu = *Inga punctata*, Lipl = *Licania platypus*, Piad = *Piper aduncum*, Piae = *Piper aequale*, Prco = *Protium copal*, Psch = *Psychotria chiapensis*, Valu = *Vatairea lundellii*, Viko = *Virola koschnyi*.

**Figure S3.** Mammals consuming fruits of *Pouteria sapota* (top) and *Brosimum alicastrum* (bottom) within the study area in the Montes Azules Biosphere Reserve. Baird's tapir (*Tapirus bairdii*) (top) and paca (*Cuniculus paca*) (bottom).

**Figure S4.** Temporal changes in (a) survival probability, (b) tree seedling/sapling recruitment and (c) plant density among treatments for the three periods evaluated excluding the event of massive production of *Vatairea lundellii* seedlings in 2011. Values come from Jolly-Seber open population models  $\pm 1$  SE. C = control plot, PE = partial enclosure and TE = total enclosure. (\*) indicates significant differences compared with control ( $p < 0.05$ ).

**Figure S5.** Changes in (a) species richness and (b) Shannon diversity among treatments over time. Box plots illustrate variation within each treatment and continuous lines represent the predictors of the linear mixed-effects models. C = control plot, PE = partial enclosure and TE = total enclosure.

**Figure S6.** Rarefaction curves showing changes in seedling community Shannon Index observed between 2008 and 2013 in each of the experimental treatments. Continuous lines represent 95% confidence intervals. Vertical lines show the minimum number of individuals found in any treatment.

## CAPÍTULO IV

**Figura 1.** Análisis de componentes principales de los atributos de semillas de árboles tropicales. En rojo se indican los atributos bromatológicos y en azul los metabolitos secundarios. Los datos ausentes de defensa química para *P. oxyphyllaria* se trataron como NAs. Siglas: Amho = *Ampelocera hottlei*, Bral = *Brosimum alicastrum*, Brlc = *B. lactescens*, Cael = *Castilla elastica*, Digu = *Dialium guianense*, Inpa = *Inga pavoniana*, Psox = *Pseudolmedia oxyphyllaria*, Viko = *Virola koschnyi*; CNE = Carbohidratos no estructurales.

**Figura 2.** Regresión entre la proporción de semillas removidas y los ejes multivariados 1 y 2. Las siglas son las mismas de la figura 1.

**Figura 3.** Proporción promedio de semillas removidas en las parcelas testigo (T) y en los tratamientos de exclusión parcial (EP) y total (ET). Las barras de error son errores estándar de las medias por especie en cada tratamiento, calculados con base en las réplicas (sitios). Especies que presentaron diferencias significativas entre tratamientos de exclusión aparecen marcadas con un asterisco (\*). Las siglas son las mismas de la figura 1.

# LISTA DE TABLAS

---

## CAPÍTULO I

**Tabla 1.** Estudios que analizan el efecto de la defaunación de mamíferos herbívoros sobre la supervivencia (S), densidad de individuos (D) y riqueza de especies (R) de plántulas y brinzales. 1 = incremento, -1 = disminución, 0 = no efecto.

## CAPÍTULO II

**Table 1.** Mammal species recorded at focal trees by camera-traps; n = number of individuals monitored of each tree species/year. Dietary guilds are taken from Medellín (1994); C = carnivore, F = frugivore, G = grazer, H = herbivore, O = omnivore. Letters indicate if recorded species had a direct interaction (Y) or not (N) with fruits.

**Table S1.** Independence times used to group pictures of each mammal species in each fruiting season. These times were calculated using a simple simulation coded in the R program (see Materials and methods for further details).

**Table S2.** Frequency of visitation (number of events) of mammals to focal fruiting trees of *Pouteria sapota* and *Licania platypus* in 2013 and 2014 sampling seasons; n = number of individuals monitored of each tree species.

## CAPÍTULO III

**Table S1.** Mammals recorded in the study area using different methods, before and during the period in which seedling censuses were conducted. Species names follow Wilson and Reeder (2005). Data in “Camera-traps” column indicate minimum and maximum values of capture frequency (picture records/100 camera-trapping days) based on five camera-trapping studies (superscript numbers and references given below).

**Table S2.** Initial (2008) and final (2013) abundances of 11 plant species present in all treatments at the onset of the experiment of mammalian exclusion conducted in Montes Azules Biosphere Reserve. These species were included in the analysis of covariance and graphed in the figure 4 of the main text.

## CAPÍTULO IV

**Tabla 1.** Especies de mamíferos pequeños, medianos y grandes que potencialmente pueden remover las semillas de ocho especies de árboles tropicales usadas en este estudio. Categorías de tamaño, dieta y hábito fueron tomados de Medellín (1994); P = pequeño (< 500 g), M = medianos (> 500 g a < 10 kg), GR = grandes (> 10 kg); G = Granívoro, F/H = Frugívoro/herbívoro, F/O = Frugívoro/Omnívoro, H/R = Herbívoro/ramoneador; T = terrestre, Sc = escansorial.

**Tabla 2.** Número de semillas y réplicas utilizadas por especie para los experimentos de remoción llevados a cabo en dos temporadas de fructificación, julio – agosto 2013 y mayo – junio 2014. T = parcela testigo, EP = exclusión parcial, ET = exclusión total.

**Tabla 3.** Correlaciones de Pearson entre los atributos medidos de las semillas de siete especies de árboles colectadas en la Reserva de la Biósfera Montes Azules. Las correlaciones significativas ( $p < 0.05$ ) son indicadas en negrita.

**Tabla 4.** Contribución de las variables contenido de humedad, nutrimentos y defensas químicas, medidas en semillas de ocho árboles tropicales, a los primeros tres ejes de ordenación del PCA.

**Tabla 5.** Características de las especies de mamíferos registradas mediante fototrampeo en las parcelas testigo de los sitios experimentales. Categorías de dieta fueron tomados de Medellín (1994); G = Granívoro, F/H = Frugívoro/herbívoro, F/O = Frugívoro/Omnívoro, H/R = Herbívoro/ramoneador. FC = Frecuencia de Captura, calculada como Número de eventos/esfuerzo de muestreo \* 100.

## RESUMEN

---

La defaunación de los bosques tropicales es un proceso de reducción y extinción de poblaciones de vertebrados silvestres debido a actividades antrópicas como la cacería y la pérdida de hábitat. Desde los primeros estudios sobre este tema, a inicios de la década de los 90, ha crecido la preocupación en el ámbito de la conservación y la ecología porque la defaunación no sólo implica el empobrecimiento de la diversidad faunística de los bosques tropicales, sino la alteración y/o extinción de procesos ecológicos en los que juegan un papel dichas especies.

Este proyecto de investigación se fundamenta en la idea que los mamíferos herbívoros (*sensu lato*) terrestres son uno de los filtros bióticos que afecta el paso de las semillas que se encuentran en el suelo del bosque, a estadíos siguientes de reclutamiento en la comunidad regenerativa (plántula y brinzal). En este sentido, las interacciones planta-mamífero forman parte de los mecanismos que ayudan a mantener la alta diversidad florística de los bosques tropicales. Por tanto, se predice que la ausencia o disminución de los mamíferos herbívoros terrestres (*i.e.* frugívoros, granívoros, folívoros) puede modificar la estructura y composición de la comunidad regenerativa al alterar los patrones de dispersión y depredación de semillas, de consumo de follaje y de pisoteo de plántulas.

La pregunta central de esta tesis fue: ¿Cuál es la relevancia de los mamíferos herbívoros terrestres en el mantenimiento de la estructura, composición y dinámica de la comunidad regenerativa de árboles del bosque húmedo tropical? Para responderla se utilizaron aproximaciones observacionales y experimentales en un sistema de estudio altamente conservado. La Reserva de la Biósfera Montes Azules, Chiapas es un área natural protegida que conserva la fauna de mamíferos históricamente distribuida en las selvas húmedas del Sureste mexicano, una condición fundamental para evidenciar la relevancia de las interacciones planta-mamífero.

La tesis está organizada en cinco capítulos, tres de ellos de investigación. En el capítulo introductorio expongo con base en una intensa revisión bibliográfica en qué consiste y a qué especies afecta la defaunación en los trópicos y las consecuencias sobre las comunidades de plantas. Asimismo, presento el planteamiento conceptual del proyecto: los factores y procesos implicados en la organización de la comunidad arbórea a escala local y la importancia de las interacciones planta-herbívoro en esta dinámica.



En el capítulo II analizo cuantitativamente la intensidad de la interacción entre los mamíferos frugívoros y los frutos de dos especies de árboles que contrastan en su densidad poblacional y en las características de sus frutos. En los árboles focales de *Pouteria sapota* y *Licania platypus* se registró el 90% de la fauna frugívora esperada para el área de estudio destacando el rol de tres mamíferos de gran tamaño (> 5 kg): *Tapirus bairdii*, *Pecari tajacu* y *Cuniculus paca*.

En el capítulo III demuestro, a través del seguimiento de más de 1000 plántulas y brinzales (juveniles) en 75 parcelas experimentales censadas periódicamente entre 2008 y 2013, que la exclusión experimental de los mamíferos terrestres alteró la estructura y dinámica de la comunidad y disminuyó la diversidad de especies de plantas. Con base en estos resultados se detectaron las especies que fueron favorecidas por la ausencia de los mamíferos, es decir, que experimentaron mayor reclutamiento y/o supervivencia en las exclusiones experimentales y un subconjunto de ellas fue utilizado en los experimentos del siguiente capítulo.

En el capítulo IV analizo los patrones de remoción de semillas de ocho especies de árboles que tuvieron semillas de tamaño similar pero que difirieron en características físicas y químicas. La proporción de semillas removidas dependió del tamaño del potencial consumidor y de los atributos de la semilla, principalmente de la concentración de dos metabolitos secundarios: inhibidores de tripsina y saponinas.

En el capítulo final relaciono los resultados más relevantes de los capítulos previos y examino las implicaciones de estos hallazgos. Finalmente, propongo algunos cuestionamientos cuyo análisis, considero, nos permitirá avanzar en el entendimiento de los impactos de la defaunación en los bosques tropicales.

## ABSTRACT

---

Tropical forest defaunation is a process of reduction and extinction of wild vertebrate populations due to human activities such as hunting and habitat loss. Since the first studies on this subject at the beginning of the 90s, there has been growing concern in the field of conservation and ecology because defaunation not only involves the impoverishment of the fauna diversity of tropical forests, but also the alteration and/or suppression of ecological processes in which these species play a role.

This research project is based on the idea that terrestrial herbivorous (*sensu lato*) mammals are one of the biotic filters that affects the passage of a seed -on the forest floor- through stages of recruitment in the regenerative community (seedling and sapling). In this sense, plant-mammal interactions are part of the mechanisms maintaining high plant diversity in tropical forests. Therefore, it is predicted that the absence or reduction of herbivorous mammals (*i.e.* frugivorous, granivorous, folivorous) can modify the structure and composition of regenerative community by altering the patterns of seed dispersal and seed predation, foliage consumption and trampling.

The central research question of this thesis was: What is the relevance of terrestrial herbivorous mammals in maintaining the structure, composition and dynamics of regenerative community of the rainforest? Observational and experimental approaches were used in a highly conserved studio system. The Biosphere Reserve Montes Azules (Chiapas) is a protected area that preserves the mammal fauna historically distributed in the humid forests of southeastern Mexico, a key point to demonstrate the relevance of plant-mammal interactions.

The thesis is organized into five chapters, three of them are data-based. In the introductory chapter I explain, based on an extensive review, what defaunation is, which species are affected and which are the consequences on plant communities. Also, I present the conceptual approach of the project: the factors and processes involved in the organization of the tree community to local scale and the importance of plant-herbivore interactions in this dynamic.

In Chapter II, I analyze quantitatively the strength of the interaction between frugivores and the fruits of two tree species contrasting in density and fruit characteristics. In *Licania platypus* and *Pouteria sapota* trees 90% of the frugivorous

mammals were recorded. Strongest interactions were maintained by three large mammals (> 5 kg): *Tapirus bairdii*, *Pecari tajacu* and *Cuniculus paca*.

In Chapter III, I demonstrate, through monitoring of more than 1,000 seedlings and saplings in 75 experimental plots surveyed periodically between 2008 and 2013, that the experimental defaunation of terrestrial mammals altered the structure and dynamics of the community and reduced the plant diversity. Based on these results species favored by the absence of mammals (*i.e.* increased recruitment and/or survival in experimental exclosures) were identified. A subset of these species was used in the experiments of the next chapter.

In Chapter IV seed removal patterns of eight species of trees that had a similar seed size but differ in chemical traits were analyzed. Seed removal depended on the size of potential predator and seed traits, mainly concentration of secondary metabolites: trypsin inhibitors and saponins.

In the final chapter I connect the main results of the previous chapters and examine their implications. Finally, I propose some questions whose analysis, I believe, will enable us to advance on the understanding of the impacts of defaunation in tropical forests.

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUCCIÓN GENERAL**

Angela A. Camargo-Sanabria

## La defaunación contemporánea

Los bosques tropicales se distinguen por albergar una proporción mayoritaria de la biodiversidad y proveer servicios ecosistémicos que benefician a miles de personas en el mundo (Wright, 2010). Desafortunadamente, estos ecosistemas están sometidos a disturbios de origen humano de distinta magnitud, que en conjunto están produciendo tasas de deterioro sin precedente en la historia de la humanidad (Asner et al., 2009). Por ejemplo, se estima que la deforestación ha sido responsable de la pérdida de cerca del 50% de la extensión original del bosque tropical en el mundo (Achard et al., 2002). A este impacto se suma el de amenazas “crípticas” pero no menos graves como la tala selectiva, la invasión de especies exóticas y la cacería (Peres et al., 2006; Wright & Muller-Landau, 2006). En la Amazonía Brasileña por ejemplo, entre 9.5 y 23.5 millones de animales vertebrados son consumidos anualmente por la población rural; el 70% (entre 6.5 y 15.8 millones) corresponde a especies de mamíferos (Peres, 2000).

El efecto combinado de disturbios como la cacería y la pérdida del hábitat están llevando a la extinción generalizada de poblaciones de vertebrados silvestres, un fenómeno denominado **defaunación** (Dirzo & Miranda, 1991). Aunque las actividades humanas afectan una gran variedad de especies de vertebrados, su efecto es más evidente sobre especies de mayor talla corporal (Dirzo et al. 2014). Esto se debe a que el mayor tamaño se asocia con bajas abundancias poblacionales, reducidas tasas reproductivas y prolongados tiempos de generación (Davidson et al., 2009). Los grandes mamíferos resultan ser los vertebrados más afectados porque presentan varios de los atributos que los hacen particularmente vulnerables a la sobreexplotación, a la pérdida del hábitat y a sus efectos sinérgicos (Dirzo, 2001; Fa & Brown, 2009; Peres, 2001; Redford, 1992). Además, este grupo es seleccionado sistemáticamente por los cazadores pues representa una alta ganancia de carne por unidad de tiempo invertido en la faena de caza (Jerozolinski & Peres, 2003). Actualmente se reconoce que el estado de conservación de los grandes mamíferos frugívoros, granívoros y folívoros (que en conjunto llamaré herbívoros) ha empeorado y que su pérdida puede tener efectos en cascada sobre otras especies y sobre procesos ecológicos a nivel de vegetación, hidrología, ciclo de nutrientes y regímenes de fuego (Di Marco et al., 2014; Dirzo et al., 2014; Ripple et al., 2015; Young et al., 2014).

## Impactos de la defaunación sobre las interacciones planta – mamífero en los bosques tropicales

Gran parte de los mamíferos que son extirpados de los bosques impactan directamente la dinámica de las poblaciones de plantas mediante la dispersión y depredación de semillas, el consumo de follaje y el pisoteo de plántulas (Paine & Beck, 2007; Peres & van Roosmalen, 2002; Terborgh & Wright, 1994; Tobler et al., 2010). Por tanto, se reconoce que la defaunación no sólo implica el empobrecimiento de la diversidad faunística de los bosques sino la alteración y/o extinción de procesos ecológicos que sustentan su estructura y diversidad vegetal (Dirzo 2001). Las primeras evidencias del impacto de la ausencia de mamíferos herbívoros surgieron al observar que en los bosques defaunados, en comparación con los conservados, cambian los patrones de dispersión de semillas (Asquith et al., 1997; Wang et al., 2007; Wright & Duber, 2001), de depredación de semillas (Beckman & Muller-Landau, 2007; Dirzo et al., 2007; Roldán & Simonetti, 2001), así como de herbivoría y de supervivencia de plántulas (Dirzo & Miranda, 1991; Paine & Beck, 2007; Terborgh & Wright, 1994; Terborgh et al., 2008). Tales efectos tienen el potencial para modificar la estructura y composición de las comunidades vegetales al impactar las semillas y plántulas que son la base para la regeneración del bosque (Beckman & Muller-Landau, 2007; Dirzo, 2001; Muller-Landau, 2007; Wright, 2003).

Las consecuencias de la defaunación de mamíferos herbívoros se pueden analizar en términos de su impacto en la probabilidad de reemplazamiento de un árbol por otro; este proceso opera a la escala de unos cuantos metros en el suelo de la selva y constituye la base para entender la organización de la comunidad arbórea que crece en una localidad (Martínez-Ramos, 1991; Fig. 1). En el sotobosque de la selva, las semillas presentes en el suelo provienen de aquellas producidas por el árbol parental (i.e., “semillas locales”) o de la dispersión activa de los animales (i.e., “semillas foráneas”; Martínez-Ramos & Soto-Castro, 1993). La posibilidad de que una semilla pase desde el banco de semillas a la comunidad de plántulas y brinzales y se establezca como adulto está determinada por filtros de carácter abiótico (p.ej., humedad, luz, nutrientes) y biótico (p.ej., los relacionados con el impacto de los mamíferos granívoros y consumidores de follaje; Baldeck et al., 2013; Lebrija-Trejos et al., 2010; Paine et al., 2012). En otras palabras, múltiples mecanismos de mortalidad post-dispersión, tanto de semillas como de plántulas, operan en conjunto para determinar qué especies persistirán en una localidad dada. Algunos estudios han mostrado que los vertebrados folívoros y depredadores de semillas pueden

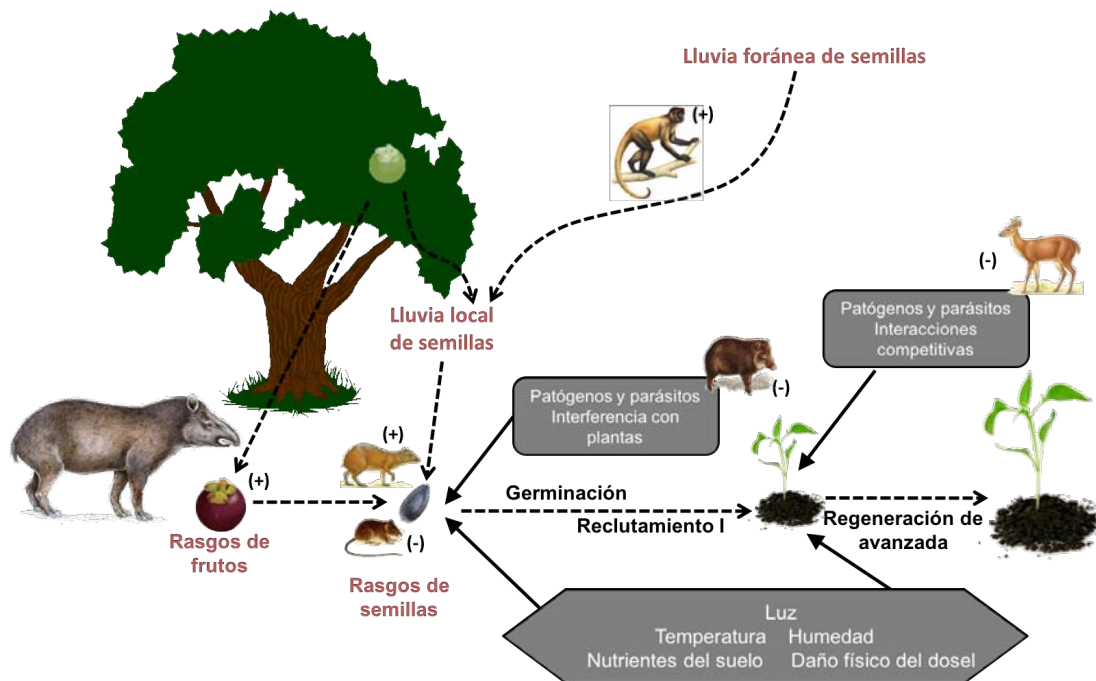
influnciar más fuertemente la supervivencia y reclutamiento de plántulas de especies comunes, en comparación a factores abióticos como la luz o el suelo y que la competencia intra-específica (Clark et al., 2012; Paine et al., 2008); de esta forma contribuyen al mantenimiento de la alta diversidad florística de los bosques tropicales. En este contexto se puede esperar que la ausencia de estos mamíferos se relacione con un aumento significativo en la supervivencia y densidad de plántulas de especies comunes, lo que conduciría a una disminución de la diversidad y la equitatividad en la comunidad regenerativa. Esta es la hipótesis central que pongo a prueba en esta tesis enfocándome en las interacciones de depredación de semillas y herbivoría de plántulas que ocurren en el sotobosque de la selva.

De acuerdo con el esquema conceptual de la Figura 1, la probabilidad de que una semilla se incorpore en la comunidad regenerativa no sólo depende de factores extrínsecos (bióticos o abióticos) sino que está influenciada de manera importante por la abundancia relativa de las semillas y sus atributos intrínsecos. Uno de los atributos que influye en la probabilidad de establecimiento de las plántulas es el tamaño de la semilla, el cual se asocia con la capacidad de la plántula para sobrevivir en condiciones ambientales adversas, incluyendo la tolerancia al daño por herbívoros (Leishman et al., 2000). Sin embargo, el tamaño es sólo una de los atributos de las semillas que pueden influir en su probabilidad de establecimiento (Baraloto et al., 2005). Entre otros atributos figuran la cantidad y calidad de las reservas, que junto con el tamaño determinan la cantidad total de recursos disponibles para el crecimiento de la plántula en su etapa inicial y la morfología funcional del cotiledón (Fenner, 1983; Grubb, 1998; Soriano et al., 2011).

Desde el punto de vista de la interacción planta-mamífero, el destino de una semilla en el suelo del bosque no solo depende de su tamaño. El animal selecciona la semilla con base en atributos adicionales como su valor nutricional, la presencia y concentración de toxinas, y de barreras físicas que comprometen el tiempo invertido en su manipulación (Blate et al., 1998; Hulme & Benkman, 2002). Por ejemplo, Guimarães et al. (2003) demostraron que la presencia de alcaloides en semillas de *Ormosia arborea* disminuyó la depredación por roedores (*Dasyprocta leporina*), mas no su dispersión. En China, Xiao et al. (2008) determinaron que semillas con alto contenido de grasas y baja concentración de taninos fueron más removidas que semillas con mayor concentración de taninos. Por el contrario, Wang & Chen (2011) demostraron que dos especies de roedores prefirieron almacenar semillas con niveles intermedios de taninos, sugiriendo que los animales han desarrollado algún mecanismo fisiológico o de comportamiento que les permite contrarrestar los efectos



negativos de estos compuestos. Zhang & Zhang (2008) hallaron que la velocidad de remoción de semillas en un bosque deciduo de China decreció de forma significativa con el aumento en el grosor del endocarpo y fue independiente de otros atributos como el tamaño de la semilla, su valor calórico y su concentración de taninos. En el contexto de la defaunación, el tamaño de la semilla es considerado un atributo informativo de la dirección y la magnitud de los impactos sobre las comunidades de plantas, prediciéndose que especies de semilla grande tenderían a dominar en la comunidad regenerativa por la falta de sus depredadores (Dirzo et al., 2007). Sin embargo, existe una variación funcional importante en los atributos de la semilla que aún no ha sido considerada a la luz de patrones diferenciales de supervivencia y reclutamiento de plántulas y brinzales en un bosque con exclusión experimental de la fauna.



**Figura 1.** Procesos y factores (que tienen lugar en el sotobosque) implicados en la organización de la comunidad arbórea a escala local. Una semilla que llega al suelo del bosque, proveniente de la lluvia de semillas local o foránea, germina, se establece, y se recluta incorporándose a la comunidad regenerativa (plántulas y brinzales), y luego a la comunidad de árboles adultos. El paso a través de los procesos de dispersión, germinación y reclutamiento es filtrado por factores bióticos y abióticos y depende igualmente de los atributos funcionales de los frutos, las semillas y las plántulas.

Además de las características intrínsecas de las plantas, el resultado de la interacción planta-mamífero es influenciada por la composición de la comunidad de mamíferos herbívoros (Wright, 2003). La magnitud y la dirección de los efectos de la defaunación sobre la comunidad regenerativa dependen de la biota involucrada (Asquith et al., 1997; Giacomini & Galetti, 2013; Wright et al., 2000). Por ejemplo, en México la pérdida de mamíferos herbívoros de gran tamaño se relacionó con una alta densidad de plántulas de especies dominantes (Dirzo & Miranda, 1991) y en Panamá con una densidad menor (Asquith et al., 2007). Asquith et al. (2007) indicaron que tal contraste pareció depender de la identidad de la fauna remanente que no es cazada y que se libera de la competencia y la depredación. Esta fauna remanente corresponde casi exclusivamente a especies de roedores resilientes a los efectos de la defaunación (Galetti et al., 2015). Por otro lado, Paine & Beck (2007) sugieren que la baja actividad de mamíferos herbívoros (tapir, venado) en su área de estudio, Parque Nacional Manú (Perú), pudo afectar sus resultados en términos del impacto de los grandes mamíferos sobre la supervivencia y el crecimiento de plántulas. De acuerdo a lo anteriormente expuesto, identificar las especies de mamíferos presentes en el área de estudio, y tener alguna estimación de su abundancia y/o nivel de actividad, es crítico para alcanzar conclusiones más confiables sobre los impactos de la defaunación.

Recapitulando, los estudios que hasta el momento se han llevado a cabo predicen que la defaunación disminuirá la diversidad florística de los bosques tropicales al favorecer la dominancia de ciertas especies de plantas como aquellas con semillas grandes; sin embargo, los estudios realizados hasta el momento no ofrecen evidencia concluyente. Por ejemplo, Dirzo & Miranda (1991) reportaron una disminución en la diversidad de plántulas al comparar el sotobosque de Los Tuxtlas (bosque defaunado) con el de Montes Azules (bosque conservado). Dicha correlación contrasta con estudios experimentales que no detectaron diferencias significativas en la riqueza de especies en ausencia de los mamíferos herbívoros (Paine & Beck, 2007; Royo & Carson, 2005) e incluso con otros que registraron un efecto positivo (Ickes et al., 2001; Tabla 1). Sin embargo, la mayoría de los estudios que figuran en la Tabla 1 sí coinciden en que la ausencia de los mamíferos herbívoros se relacionó con un aumento significativo en la densidad de plántulas y/o brinzales. Esto ocurrió cuando se evaluaron especies focales (Terborgh & Wright, 1994; Wright & Duber, 2001), o cuando se evaluó toda la comunidad (Dirzo & Miranda, 1991; Ickes et al., 2001).

**Tabla 1.** Estudios que analizan el efecto de la defaunación de mamíferos herbívoros sobre la supervivencia (S), densidad de individuos (D) y riqueza de especies (R) de plántulas y brinzales. 1 = incremento, -1 = disminución, 0 = no efecto.

Fuente	Lugar	Spp / Comunidad	Aproximación metodológica <sup>a</sup>	S	D	R
Dirzo & Miranda (1991)	México	Comunidad de plántulas	Correlativa		1	-1 <sup>b</sup>
Terborgh & Wright (1994)	Panamá/Perú	1 sp.	Experimental / correlativa	1	1	
Asquit et al. (1997)	Panamá	3 spp.	Experimental / correlativa	-1		
Wright et al. (2000)	Panamá	2 spp.	Correlativa		1	
Wright & Duber (2001)	Panamá	1 sp.	Correlativa		1	
Ickes et al. (2001)	Malasia	Comunidad de brinzales	Experimental		1	1
Asquith & Mejía-Chang (2005)	Panamá	9 spp.	Correlativa	1		
Royo & Carson (2005)	Panamá	Comunidad herbácea	Experimental		1	0
Paine & Beck (2007)	Perú	14 spp.	Experimental	0	0	0
Terborgh et al. (2008)	Perú	Comunidad de brinzales	Correlativa		-1	
Theimer et al. (2011)	Australia	Comunidad de plántulas	Experimental	1	1	0
Beck et al. (2013)	Perú	Comunidad de plántulas	Experimental	1	1	
Brocardo et al. (2013)	Brasil	Comunidad de plántulas	Experimental	0	0	0
Harrison et al. (2013)	Borneo	Comunidad de brinzales	Correlativa		1	-1
Kurten et al. (2015)	Panamá	Comunidad de brinzales	Experimental		1	1

<sup>a</sup>Experimental, se refiere al uso de parcelas de exclusión de mamíferos. Correlativa, cuando comparan bosques que difieren en la composición y abundancia de mamíferos o fragmentos de bosque de diferente tamaño con bosques conservados. Experimental/correlativa: combinan una aproximación correlativa con parcelas de exclusión.

<sup>b</sup>Índice de diversidad de Shannon.

Algunos aspectos criticables de estos estudios es que la mayoría han sido de poca duración (< 2 años), otros se enfocan en muy pocas especies limitando su alcance para inferir a nivel comunitario y varios han sido conducidos en fragmentos, en donde los resultados pueden verse confundidos por los efectos de otros factores relacionados con la fragmentación (*i.e.* efecto de borde o aislamiento; Galetti & Dirzo, 2013).

Dada la ambigüedad de los diferentes estudios realizados hasta la fecha, en esta tesis me propongo analizar la relevancia de las interacciones planta-mamífero en el mantenimiento de la diversidad de la comunidad regenerativa del bosque tropical, para entender mejor los impactos de la defaunación contemporánea de mamíferos. Para esto, la estrategia metodológica consistió en: (1) realizar un monitoreo de dos especies de árboles en fructificación para evidenciar la importancia de la interacción entre mamíferos frugívoros y plantas en el suelo de la selva (capítulo II); (2) usar un diseño experimental con dos tipos de exclusiones que limitan el acceso de: i) los mamíferos medianos-grandes y ii) todos los mamíferos terrestres. Esto con la finalidad de evaluar el efecto de la defaunación experimental sobre la estructura y composición de la comunidad regenerativa (capítulo III); y (3) realizar experimentos de remoción de semillas, de tamaño similar pero que difieren en atributos químicos, de ocho especies de árboles para explorar un posible mecanismo que explique los efectos de la defaunación experimental sobre la comunidad regenerativa (capítulo IV).

La tesis está estructurada en cinco capítulos, un primer capítulo introductorio, tres capítulos de investigación y un capítulo final de discusión y conclusiones generales. Los capítulos de investigación II y III están escritos en formato de artículo científico, el primero de ellos fue enviado a la revista *Acta Oecologica* y el segundo ya se encuentra publicado en el *Proceedings of the Royal Society, B*.

# OBJETIVOS

---

## General

Analizar el papel de las interacciones planta-mamífero en el mantenimiento de la estructura, composición y dinámica de la comunidad regenerativa de árboles en un bosque húmedo tropical.

## Específicos

1. Analizar las características del ensamble de mamíferos medianos y grandes que visitan árboles en fructificación de dos especies que contrastan en su densidad y en las características nutrimentales de sus frutos.
2. Analizar cómo la exclusión experimental de mamíferos herbívoros afecta la abundancia, diversidad, composición y dinámica de la comunidad regenerativa.
3. Evaluar el papel de atributos nutrimentales y defensivos de las semillas en la interacción con mamíferos en un contexto de defaunación.

**CAPÍTULO II**

**Interactions between terrestrial mammals and  
the fruits of two Neotropical rainforest tree  
species**

Angela A. Camargo-Sanabria & Eduardo Mendoza

*Manuscrito enviado a Acta Oecologica*

## Abstract

Mammalian frugivory is a distinctive biotic interaction of tropical forests; however, most efforts in the Neotropics have focused on cases of animals foraging in the forest canopy, in particular primates and bats. In contrast much less is known about this interaction when it involves fruits deposited on the forest floor and terrestrial mammals. We conducted a camera-trapping survey to analyze the characteristics of the mammalian ensembles visiting fruits of *Licania platypus* and *Pouteria sapota* deposited on the forest floor in a well preserved tropical rainforest of Mexico. Both tree species produce large fruits but contrast in their population densities and fruit chemical composition. In particular, we expected that more species of terrestrial mammals would consume *P. sapota* fruits due to its higher pulp:seed ratio, lower availability and greater carbohydrate content. We monitored fruits at the base of 13 trees (*P. sapota*, n= 4 and *L. platypus*, n= 9) using camera-traps. We recorded 13 mammal species from which we had evidence of 8 consuming or removing fruits. These eight species accounted for 90% of the species of mammalian frugivores active in the forest floor of our study area. Ensemble of frugivores associated to *L. platypus* (6 spp.) was a subset of that associated to *P. sapota* (8 spp). Large body-sized species such as *Tapirus bairdii*, *Pecari tajacu* and *Cuniculus paca* were the mammals more frequently interacting with fruits of the focal species. Our results further our understanding about interactions of Neotropical plants with their terrestrial mammalian frugivores.

## Key words

*Licania platypus*, large-fruited trees, mammalian frugivory, *Pouteria sapota*, fruit chemical composition, southeast Mexico.



## Introduction

Frugivores can represent more than 80% of the total mammalian biomass in Neotropical forests (Haugaasen and Peres, 2005). Ecological importance of this guild is illustrated by the high proportion (ca. 40%-80%) of tropical shrub and tree species relying on their services to disperse their seeds (Muller-Landau and Hardesty, 2005) and the impacts loss of this fauna has on the forest's regenerative potential (Camargo-Sanabria et al., 2015).

Yet, evaluation of the ecological roles played by tropical vertebrate frugivores remains incomplete due to the fact that most of our current knowledge about this interaction comes from studies focusing on primates, birds and bats which primarily forage in the canopies of trees (Fleming and Kress, 2011). In few cases a good amount of information exists about the interaction between fruits and ground-dwelling mammals (e.g., *Dasyprocta punctata*) (Gálvez et al., 2009; Jansen and Forget, 2001). However, in general, there is a marked scarcity of studies analyzing this type of interaction particularly at the animal community level (Vidal et al., 2013). Fortunately, camera-trapping has opened up the possibility of studying these interactions with a previously not available detail (Trolliet et al., 2014). Camera-traps allow the continuous monitoring of vertebrate visitation to fruits causing minor disturbance and increasing chances to record rare and elusive species (Seufert et al., 2009; Yasuda et al., 2005). For example, Prasad et al. (2010) documented, using camera-trapping, that ruminants were the most important consumers of the fruits of the large-seeded tree *Phyllanthus emblica* deposited on the forest floor in southern India. Likewise, Jayasekara et al. (2007) found marked differences in the frugivore community visiting 15 large-fruited tree species in Sri Lanka during the day and night. Despite the increasing evidence showing camera-trapping as a very useful tool to reveal the intricacies of the interactions between forest mammals and fallen fruits, its application to this purpose is far behind when compared to its use in mammal inventories (Ahumada et al., 2013; Tobler et al., 2008; Trolliet et al., 2014). Moreover, the few available studies applying camera-trapping to examine the ensembles of mammalian frugivores are geographically restricted due to the fact they have been conducted primarily in the Palearctic.

The possibility to document in greater detail the interaction between mammals and fruits, deposited on the forest floor, is helping to examine factors determining fruit attractiveness to frugivorous (Jordano, 2000). Previous studies have shown that traits such as phenology, spatial distribution, crop size of fruiting trees as

well as the morphology and nutrient content of fruits play a significant role in food choice among sympatric species of birds and primates (Flörchinger et al., 2010; Gautier-Hion et al., 1985; Stevenson and Link, 2010).

In this study we analyze, using camera-trapping, the ensemble of medium/large terrestrial mammals visiting fruits deposited under individuals of two large-fruited tree species: *Pouteria sapota* and *Licania platypus*. We take advantage of the existence of contrasts in the population density and the nutritional characteristics of the fruits of these species to assess differences in the visiting mammal ensembles. We specifically focus on: 1) comparing species richness and composition of the mammal ensemble visiting *L. platypus* and *P. sapota* and 2) assessing variation in the strength (e.g., number of visits and average length of visits) of the mammal-fruit interaction in both tree species. We expect to find a richer ensemble of mammals and more intense interactions with *P. sapota* due to its high energy content, its greater pulp:seed mass ratio (4.7 vs. 0.7 in *L. platypus*) and its low availability.

## Materials and methods

### *Study area*

This study was conducted in the Montes Azules Biosphere Reserve (MABR) in the state of Chiapas, southern Mexico (Fig. S1). The MABR has an area of 3312 km<sup>2</sup> between 19°05'-20°07'N and 90°45'-91°30'W. Average temperature in the MABR ranges between 24°C and 26°C (INE, 2000) and mean annual precipitation is 2200 mm (Guacamayas Weather Station). There is a dry season from December to April and a rainy season from May to November. Fruit production occurs during the rainy season. The MABR supports a highly diverse fauna of medium (500 g – 5 kg) and large (> 5 kg) terrestrial or semiarboreal mammals which include some important frugivores such as Baird's tapir (*Tapirus bairdii*), Collared peccary (*Pecari tajacu*), Spotted paca (*Cuniculus paca*), agouti (*Dasyprocta punctata*), and White-nosed coati (*Nasua narica*) (Medellin, 1994).

### *Focal tree species*

*Licania platypus* (Hemsl.) Fritsch (Chrysobalanaceae) is a canopy tree 10-30 m tall distributed from Mexico to northern Colombia (Pennington and Sarukhán, 2005). Fruits are drupes (average size = 14 cm in length and 12 cm wide) with a fleshy sweet and yellow mesocarp and a fibrous and hard endocarp containing a single seed averaging 10 cm in length and 6 cm wide (Pennington and Sarukhán, 2005). In the

study area, fruits fall from May to August (M. Martínez-Ramos, unpubl. data). Pulp's dry matter concentration of macronutrients in this species is as follows: 25.8% protein, 0.75% lipids, 56.5% non-structural carbohydrates, 3.3% minerals, and 13.4% fiber; moisture content in fruit pulp is 65% (A.A. Camargo-Sanabria, unpubl. data). Some evidence suggests that fallen fruits are eaten by a variety of mammals including *C. paca* and *T. bairdii* (Beck-King et al., 1999; Foerster and Vaughan, 2002; Naranjo, 2009).

*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn (Sapotaceae) is a tree up to 40 m tall, distributed from Mexico to northern South America. Fruits are 20 cm long and 8 cm wide; they have a very fleshy and red mesocarp, covering one brown seed up to 10 cm long (Pennington and Sarukhán, 2005). Fruits ripen from December to March, in the study area, and fall from April to August or September (M. Martínez-Ramos, unpubl. data). Concentration of macronutrients in the pulp's dry matter is as follows: 8.8% protein, 0.11% lipids, 89.6% non-structural carbohydrates, 0.8% minerals, and 0.6% fiber; moisture percentage is 61%. (A.A. Camargo-Sanabria, unpubl. data). Evidence suggests that fallen fruits can be eaten by *T. bairdii*, *P. tajacu* and *E. barbara* (Brewer and Rejmánek, 1999; Morton, 1987; Naranjo, 2009).

Periods of fruit falling of *P. sapota* and *L. platypus* match the onset of the local rainy season and both occur primarily on alluvial terraces of our study area (Martínez-Ramos, 2006). Density of *L. platypus* is estimated to be 14.7 individuals/ha, which highly contrasts with density of *P. sapota* estimated to be less than 1 individual/ha (M. Martínez-Ramos, unpubl. data).

#### *Monitoring of focal fruiting trees*

To locate fruiting trees of *L. platypus* and *P. sapota* we conducted a search along trails in the vicinity of the Chajul Field Station, located in the southern portion of the MABR. We identified ca. 30 fruiting trees of both species but only 13 of them had fruits accumulated at their base. We georeferenced and used these trees to set up camera-traps. Three individuals of *L. platypus* were monitored during July-August in 2013. Six individuals of *L. platypus* (different to those monitored previously) and four of *P. sapota* were monitored during May-June in 2014. Mean distance between focal trees was 346 m [43 – 519 m] in 2013 and 1472 m [10 – 3296 m] and 4325 m [337 – 8045 m] in 2014 for *L. platypus* and *P. sapota*, respectively. Neighboring focal trees did not overlap in their fruiting/monitoring periods. Mean diameter at breast height (dbh) of focal trees was 116.9 cm  $\pm$  37 ( $\pm$  SD hereafter) in *L. platypus* and 78.5 cm  $\pm$  23 in *P.*

*sapota*. Tree crown dimensions averaged 21 x 18 m and 20 x 17 m for *L. platypus* and *P. sapota*, respectively.

In each focal tree we set up one camera-trap model Ltl Acorn 5210A, at a height between 0.6 and 1.5 m, aimed at fallen fruits. Camera-traps were protected against direct rain by covering them with a small plastic sheet (*ca.* 18 cm diameter). We set the cameras to take three pictures each time they were activated and to have a one-second delay before reactivation. The motion sensor was set to standard sensibility. Camera-traps were active during day and night and were checked once or twice a week to download pictures and verify battery levels. Monitoring periods per tree ranged from 10 to 37 days depending on fruit availability on the floor.

#### *Data analyses*

We organized pictures in a database with the help of the specialized software Camera Base v1.5.1 (Tobler, 2010). All mammal pictures were tagged with the species' scientific name and identified with the corresponding camera trap id, date and time of data collection. Based on the behavior observed in the pictures we classified mammals as those having a direct interaction with fruits (*i.e.*, consuming or removing fruits) and those not having direct interaction (*i.e.*, only crossing in front of the cameras).

We calculated capture frequency (CF) for each mammal species in each individual tree using the following equation: (Number of events recorded / sampling effort) \* 100 camera-days. To avoid counting each picture of the same species as an independent event we pooled sequences of pictures of the same species recorded in the same tree. Camera-trapping studies commonly use 1, 12, or 24 hour-intervals to group picture records as a way of reducing overestimation of animal activity or relative abundance (Burton et al., 2015). This procedure is applied even in studies conducted at the community level which usually include species with contrasting behaviors. We followed an alternative approach to this in which we defined species-specific periods to group pictures. We built a script using the R program (R Core Team, 2015) for grouping pictures using increasingly longer periods (from 1 to 1440 min). We plotted the number of picture clusters (events) as a function of period length to find the minimum time of stabilization (*i.e.*, where the number of picture clusters remained with minor changes) (Fig. S2). We used this approach to define the period used to group pictures of each mammal species in each fruiting season (Table S1).

To test for the existence of spatial autocorrelation in the ensemble of mammals visiting different focal trees, we carried out a Mantel test (Legendre and

Legendre, 1998). We calculated two types of distances for this analysis: a) physical distance among trees and b) dissimilarity in the ensemble of mammals recorded in each tree as measured by the Bray-Curtis index based on mammal capture frequencies. We generated distance matrices and applied the analysis using the R package *ade4* (Dray and Dufour, 2007). We carried out this analysis for each tree species individually and by combining data from both tree species for the 2014 season. We did not conduct this analysis for *L. platypus* in 2013 due to the small sample size.

To describe the species richness of mammal ensembles associated with each focal tree species, we generated sample-based rarefaction curves using EstimateS ver. 9 (Colwell, 2013). We used these curves to compare mammal species richness between tree species (year 2014) and between years for *L. platypus* (2013 vs. 2014). Comparisons of observed richness values were conducted at the smallest sampling effort, but also by extrapolating to the largest sample size (Colwell et al., 2012). We used the incidence-based estimator first-order Jackknife (hereafter Jack1) to estimate mammal species richness associated to each tree species.

To compare species composition between mammal frugivore ensembles associated to *P. sapota* and *L. platypus*, we performed a non-metric multidimensional scaling (NMDS) based on mammal capture frequencies and using function *metaMSD* from the R package *Vegan* (Oksanen et al., 2013). To test statistically whether there was a significant difference in ensemble's composition between the two tree species, we conducted an analysis of similarities (ANOSIM) using the same R package.

We calculated a measure of the interaction strength (IS) between mammals and trees based on the product of the capture frequency of each mammal species in each tree, the mean duration of each visit, the proportion of days each mammal species was recorded from the total number of days focal trees were monitored and the mode of the number of individuals recorded in each picture.

$$IS = \left( CF * \frac{\text{Duration of visit} * \text{Days a species was recorded}}{\text{Days an individual tree was monitored}} * \text{Mode of number of indivi} \right)$$

We standardized IS values by dividing them by the maximum value recorded in each tree species.

## Results

We accumulated a total sampling effort of 278 camera-trap days: 84 and 130 for *L. platypus* in 2013 and 2014, respectively; 64 for *P. sapota* in 2014. This sampling effort produced 2500 pictures of animals grouped in 235 events (Table S2). Overall, we recorded 15 vertebrate species including 2 birds and 13 mammals (Table 1). Eleven of these mammal species were recorded in *P. sapota* and nine were recorded in *L. platypus* in each year. Seven species were shared by both tree species and in both years for *L. platypus* (Table 1). Overall, Baird's tapir (*Tapirus bairdii*) and coati (*Nasua narica*) were the most frequently recorded species (each one accounting for 19% of the all events) (Table S1). We did not record any mammal species in one *L. platypus* focal tree therefore, we did not include it in the following analyzes. We did not detect evidence of spatial autocorrelation in the composition of the ensembles of mammals visiting focal trees in 2014 analyzing each tree species separately (*L. platypus*,  $r = 0.016$ ,  $p = 0.38$ ; *P. sapota*,  $r = -0.304$ ,  $p = 0.53$ ) or in combination ( $r = 0.036$ ,  $p = 0.40$ ).

Species rarefaction curve of the mammal ensemble visiting *P. sapota* was over the corresponding curve of *L. platypus* in 2014 yet, 95% confidence intervals overlapped (Fig. 1). On the other hand, richness of mammal ensembles visiting *L. platypus* focal trees was very similar in both years (2013 and 2014) (Fig. S3). These patterns were similar both when conducting comparisons at a common minimum sampling effort or based on extrapolated curves. In the case of *L. platypus* observed species richness was slightly less than that estimated by Jack1 ( $9.99 \pm 0.99$  (SD)) whereas in *P. sapota*, Jack1 estimated species richness ( $14 \pm 1.68$ ) was clearly greater than the observed (Fig. 1).

Based on camera-trap images we were able to get evidence of 8 mammal species manipulating fruits (Fig. 2). We did not find evidence of interaction with fruits in 5 of the mammal species recorded (Table 1). These 8 species accounted for 90% of the all medium and large-bodied terrestrial and semiarboreal mammals that may include fruits in their diet reported for the region by Medellín (1994). Composition of the ensemble of species interacting with fruits was slightly different between tree species (ANOSIM  $R = 0.4$ ,  $p = 0.035$ , Fig. 3). In comparison, overall species composition of the mammal ensembles did not differ statistically between tree species (ANOSIM  $R = 0.2313$ ,  $p = 0.099$ , Fig. S4).

In 2014 *C. paca* and *T. bairdii* were the species having the strongest interaction with *L. platypus* and *P. sapota* trees, respectively. The interaction strength of *T. bairdii* with *P. sapota* trees was 1.4 times greater than the interaction strength observed

between *P. tajacu* and *P. sapota* (second place in terms of interaction strength). In *L. platypus* trees the interaction strength of *C. paca* was 2.7 times greater than the interaction established with *T. bairdii* (second place in terms of interaction strength). Overall, *T. bairdii* was the mammal having the strongest interaction with both tree species and *E. barbara* was the species having the weakest (Fig. 4).

## Discussion

We recorded a large proportion of the frugivorous mammals, known to be active in the forest floor of the study area, visiting our two focal tree species. This result indicates that both fruit species are attractive to mammals and represent an important feeding source. This finding is in agreement with evidence from studies conducted in paleotropical forests where also a high proportion of the mammalian frugivores occurring in the study area have been documented in the ensembles active at the base of fruiting trees (Kitamura et al., 2006, 7 spp.; Prasad et al., 2010, 6 spp.; Seufert et al., 2009, 8 spp.).

Focal trees shared a common core of frugivorous species in their ensembles of visiting mammals, suggesting these animals combined consumption of fruits of both tree species to fulfill different nutritional needs. It was noticeable that mammal species richness associated to trees of *P. sapota* tended to be higher (yet statistically undistinguishable) than the observed in *L. platypus* despite the fact we included a lower number of individuals of the former species. Characteristics of *P. sapota* such as its low adult/population density, high carbohydrate content in its fruits (providing a more immediate rewards to consumers) and high pulp:seed mass ratio might make this species a demanded feeding source, even for mammal species not primarily frugivorous. On the other hand, contrast between tree species in the characteristics of the interaction they established with frugivorous mammals was evident when comparing interaction strength. For example, whereas large mammals such as *T. bairdii* and *P. tajacu* were the most active visitors to *P. sapota* trees these species had a less conspicuous activity in *L. platypus* trees.

Mammal behavior recorded in pictures allowed us to get some evidence of their potential roles as seed predators or dispersers. For example, we recorded agouti and paca carrying fruits of both tree species and collared peccary and tayra removing fruits of *P. sapota*. Agouti and paca are known to be scatter-hoarders favoring dispersal of some plant species when they do not retrieve stored seeds (Jansen and Forget, 2001). Plants dispersed by these mammals include some large-seeded fruits such as *Hymenaea courbaril* (Asquith et al., 1999) and *Syagrus romanzoffiana*

(Guimarães et al., 2005). Much less is known about the role played by carnivorous species such as the tayra but some studies report consumption of fruits by this species (Bonaccorso et al., 1980; Smythe, 1986). Our camera-traps recorded this mammal clearly moving fruits away from source trees. This opens the possibility of tayra acting as a seed disperser, yet further studies are needed to assess the final fate of seeds contained in the removed fruits. On the other hand, we recorded tapir, coati and in a less extent peccaries consuming the pulp of the fruits. In the case of consumption by peccaries and coatis likely seeds were left intact, or with some damage, on the forest floor without undergoing major displacement. In contrast, we recorded active manipulation of fruits in tapir's mouth yet, we were not able to determine if seeds were swallowed or spat afterwards. Tapirs have been shown to act both as seed dispersers and seed predators (O'Farrill et al., 2013). They can disperse seeds over short distances by spitting them out during fruit mastication or over longer distances by defecating them (Fragoso et al., 2006). On the other hand, tapirs can kill seeds by crushing them during mastication or by exposure to gastric acids (Bodmer, 1991). Tobler et al. (2010) found that lowland tapir (*Tapirus terrestris*) in the Peruvian Amazon tends to avoid ingesting seeds > 25 mm in size. However, O'Farrill et al. (2013), in a recent review, found evidence indicating plant species having seeds > 20 mm and up to 60 mm can be potentially dispersed by tapirs (Naranjo, 1995). Therefore, it might be possible tapirs are providing a dispersal service to *P. sapota* seeds in our study site yet, further research is needed to assess this possibility. It stands out the fact that tapirs were amongst the mammals having a stronger interaction with our focal trees species. This species is highly endangered across its distributional range and constitutes one of the few remnant evolutionary lineages of the herbivore megafauna gone extinct during the end of the Pleistocene (Schank et al., 2015).

On the other hand, we recorded activity of mammals whose primary habit is not frugivory, such as *Conepatus semistriatus* and *Didelphis marsupialis*, among fallen fruits of our tree species. We hypothesize they were after insects (e.g., larvae or ants) feeding on fruit pulp. Studies on co-generic skunks, *C. chinga* and *C. humboldtii*, have shown these mammals heavily rely on a diet constituted primarily by insects and complemented with smaller quantities of invertebrates, vertebrates and plant material (Peters et al., 2011; Zapata et al., 2001). Likewise, it is known *D. marsupialis* feeds mainly on invertebrates and only secondarily on fruits and vertebrates (Cordero and Nicolas, 1987). Finally, it is worth noting we recorded five mammal species at the base of fruiting trees which did not seem to be interacting with the fruits. Among



these species there were three of the five species of felids present in the area: *Panthera onca*, *Leopardus pardalis* and *L. weildi*. Presence of these species might be incidental yet their capture frequencies were two times (*Panthera onca*), ten times (*L. pardalis*) and 55 times (*L. weildi*) higher than those recorded in a recent camera-trapping study conducted in our same study area (Towns, 2013). One possibility is these species were attracted to other resources concentrating at the base of fruiting trees, such as vertebrate prey consuming fruits; this possibility warrants further study.

Mammalian herbivores usually receive less attention for their study and conservation than other groups such as carnivores (e.g., felids). This occurs despite the fact that it has been shown species within this guild, particularly those large-bodied, are greatly threatened by anthropogenic extinction (e.g., Di Marco et al., 2014) and that their loss can unleash a wide variety of cascading effects (Camargo-Sanabria et al., 2015; Young et al., 2014). Our results contribute to reducing the knowledge gap regarding the role of medium/large frugivorous mammals on frugivory networks by providing quantitative information on the interaction between these species and particular fruiting tropical trees.

### **Acknowledgments**

We thank G. Jamangapé, A. Dueñas, J. Basurto and I. Rodríguez for their help to collect field data. J. Basurto also helped with the processing of images. M. Martínez-Ramos provided unpublished data. Field work was supported by grants from the Young Scientists Award (Man and the Biosphere Programme, UNESCO) and The Emily-Holmes Scholarship from the Royal Botanic Garden, Kew, awarded to A. A. Camargo-Sanabria, Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica PAPIIT-UNAM (IN21371) awarded to M. Martínez-Ramos and grants (yrs. 2013/2014) from the Coordinación de la Investigación Científica of the UMSNH awarded to E. Mendoza. The staff of the Chajul Field Station provided invaluable logistical support. A. A. Camargo-Sanabria was supported by a scholarship from the National Council of Science and Technology (CONACyT). We thank M. Martínez-Ramos, F. Espinosa, D. Valenzuela, E. Andresen, S. Mandujano, A. González, E. Brenner and J. Karubian for insightful comments on a previous version of the manuscript.

### **References**

Ahumada, J.A, Hurtado, J., Lizcano, D., 2013. Monitoring the status and trends of tropical forest terrestrial vertebrate communities from camera trap data: a tool for conservation. PLoS One 8, e73707. doi:10.1371/journal.pone.0073707

- Asquith, N.M., Terborgh, J., Arnold, A.E., Riveros, M., 1999. The fruits the agouti ate: *Hymenaea courbaril* seed fate when its disperser is absent. *J. Trop. Ecol.* 15, 229–235. doi:<http://dx.doi.org/10.1017/S0266467499000772>
- Beck-King, H., von Helversen, O., Beck-king, R., 1999. Home range, population density, and food resources of *Agouti paca* (Rodentia: Agoutidae) in Costa Rica: a study using alternative methods. *Biotropica* 31, 675–685.
- Bodmer, R.E., 1991. Influence of digestive morphology on resource partitioning in Amazonian ungulates. *Oecologia* 85, 361–365. doi:10.1007/BF00320611
- Bonaccorso, F.J., Glanz, W.E., Sandford, C.M., 1980. Feeding assemblages of mammals at fruiting *Dipteryx panamensis* (Papilionaceae) trees in Panama: seed predation, dispersal, and parasitism. *Rev. Biol. Trop.* 28, 61–72.
- Brewer, S.W., Rejmánek, M., 1999. Small rodents as significant dispersers of tree seeds in a Neotropical forest. *J. Veg. Sci.* 10, 165–174. doi:10.2307/3237138
- Burton, A.C., Neilson, E., Moreira, D., Ladle, A., Steenweg, R., Fisher, J.T., Bayne, E., Boutin, S., 2015. Wildlife camera trapping: a review and recommendations for linking surveys to ecological processes. *J. Appl. Ecol.* 52, 675–685. doi:10.1111/1365-2664.12432
- Camargo-Sanabria, A.A., Mendoza, E., Guevara, R., Martínez-Ramos, M., Dirzo, R., 2015. Experimental defaunation of terrestrial mammalian herbivores alters tropical rainforest understorey diversity. *Proc. Biol. Sci.* 282, 20142580. doi:10.1098/rspb.2014.2580
- Colwell, R.K., 2013. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 9.
- Colwell, R.K., Chao, A., Gotelli, N.J., Lin, S.-Y., Mao, C.X., Chazdon, R.L., Longino, J.T., 2012. Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. *J. Plant Ecol.* 5, 3–21. doi:10.1093/jpe/rtr044
- Cordero, G., Nicolas, R., 1987. Feeding habits of the opossum (*Didelphis marsupialis*) in northern Venezuela. *Fieldiana Zool.* 39, 125–131.
- Di Marco, M., Boitani, L., Mallon, D., Hoffmann, M., Iacucci, A., Meijaard, E., Visconti, P., Schipper, J., Rondinini, C., 2014. A retrospective evaluation of the global decline of carnivores and ungulates. *Conserv. Biol.* 00, 1–12. doi:10.1111/cobi.12249
- Dray, S., Dufour, A.B., 2007. The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *J. Stat. Softw.* 22, 1–20.
- Fleming, T.H., Kress, W.J., 2011. A brief history of fruits and frugivores. *Acta Oecol.* 37, 521–530.

- Flörchinger, M., Braun, J., Böhning-Gaese, K., Schaefer, H.M., 2010. Fruit size, crop mass, and plant height explain differential fruit choice of primates and birds. *Oecologia* 164, 151–61. doi:10.1007/s00442-010-1655-8
- Foerster, C.R., Vaughan, C., 2002. Home range, habitat use, and activity of Baird's Tapir. *Biotropica* 34, 423–437.
- Fragoso, J.M.V., Silvius, K.M., Correa, J.A., 2006. Long-distance seed dispersal by tapirs increases seed survival and aggregates tropical trees. *Ecology* 84, 1998–2006.
- Gálvez, D., Kranstauber, B., Kays, R.W., Jansen, P.A., 2009. Scatter hoarding by the Central American agouti: a test of optimal cache spacing theory. *Anim. Behav.* 78, 1327–1333. doi:dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.08.015
- Gautier-Hion, A., Quris, R., Feer, F., Dubost, G., Emmons, L., Mougazi, A., 1985. Fruit characters as a basis of fruit choice and seed dispersal in a tropical forest vertebrate community. *Oecologia* 65, 324–337.
- Guimarães, P.R., Lopes, P.F.M., Lyra, M.L., Muriel, A.P., 2005. Fleshy pulp enhances the location of *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae) fruits by seed-dispersing rodents in an Atlantic forest in south-eastern Brazil. *J. Trop. Ecol.* 21, 109–112. doi:10.1017/S0266467404001932
- Haugaasen, T., Peres, C.A., 2005. Mammal assemblage structure in Amazonian flooded and unflooded forests. *J. Trop. Ecol.* 21, 133–145. doi:10.1017/S026646740400207X
- INE, 2000. Programa de manejo de la Reserva de la Biósfera Montes Azules. México.
- Jansen, P.A., Forget, P.-M., 2001. Scatterhoarding rodents and tree regeneration, in: Bongers, et al. (Ed.), *Dynamics and Plant-Animal Interactions in a Neotropical Rainforest*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 275–288.
- Jayasekara, P., Weerasinghe, U.R., Wijesundara, S., Takatsuki, S., 2007. Identifying diurnal and nocturnal frugivores in the terrestrial and arboreal layers of a tropical rain forest in Sri Lanka. *Ecotropica* 13, 7–15.
- Jordano, P., 2000. Fruits and frugivory, in: Fenner, M. (Ed.), *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*. Commonwealth Agricultural Bureau International, Wallingford, UK, pp. 125–166.
- Kitamura, S., Suzuki, S., Yumoto, T., Poonswad, P., Chuailua, P., Plongmai, K., Maruhashi, T., Noma, N., Suckasam, C., 2006. Dispersal of *Canarium euphyllum* (Burseraceae), a large-seeded tree species, in a moist evergreen forest in Thailand. *J. Trop. Ecol.* 22, 137–146. doi:10.1017/S0266467405002889
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. *Numerical ecology*, 2nd edition. ed. Elsevier B.V., The Netherlands.

- Martínez-Ramos, M., 2006. Aspectos ecológicos de la selva húmeda en la región Lacandona: perspectivas para su estudio y conservación., in: Oyama, K., Castillo, A. (Eds.), Manejo, Conservación y Restauración de Recursos Naturales en México: Perspectivas desde la Investigación Científica. Siglo XXI Editores / UNAM, Mexico, pp. 279–292.
- Medellin, R.A., 1994. Mammal diversity and conservation in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *Conserv. Biol.* 8, 780–799. doi:dx.doi.org/10.1046/j.1523-1739.1994.08030780.x
- Morton, J., 1987. Sansapote, in: Morton, J.F. (Ed.), *Fruits of Warm Climates*. Miami, FL., pp. 113–114.
- Muller-Landau, H.C., Hardesty, B.D., 2005. Seed dispersal of woody plants in tropical forests : concepts , examples and future directions, in: Burslem, D.F.R.P., Pinard, M.A., Hartley, S.E. (Eds.), *Biotic Interactions in the Tropics: Their Role in the Maintenance of Species Diversity*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., pp. 267–308.
- Naranjo, E.J., 2009. Ecology and Conservation of Baird’s tapir in Mexico. *Trop. Conserv. Sci.* 2, 140–158.
- Naranjo, E.J., 1995. Hábitos de alimentación del tapir (*Tapirus bairdii*) en un Bosque tropical húmedo de Costa Rica. *Vida Silv. Neotrop.* 4, 32–37.
- O’Farrill, G., Galetti, M., Campos-Arceiz, A., 2013. Frugivory and seed dispersal by tapirs: An insight on their ecological role. *Integr. Zool.* 8, 4–17.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O’Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Henry, M. Stevens, H., Wagner, H., 2013. *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.0-9.
- Pennington, T.D., Sarukhán, J., 2005. *Árboles Tropicales de México. Manual para la Identificación de las Principales Especies*, 3rd edition. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México.
- Peters, F.B., Roth, P.R., Christoff, A.U., 2011. Feeding habits of Molina’s hog-nosed skunk, *Conepatus chinga* (Carnivora: Mephitidae) in the extreme south of Brazil. *Zool. (Curitiba, Impresso)* 28, 193–198. doi:10.1590/S1984-46702011000200006
- Prasad, S., Pittet, A., Sukumar, R., 2010. Who really ate the fruit? A novel approach to camera trapping for quantifying frugivory by ruminants. *Ecol. Res.* 25, 225–231. doi:10.1007/s11284-009-0650-1
- Schank, C., Cove, M. V., O’Farrill, G., Estrada, N., Poot, C., Meyer, N., Mendoza, E., García-Vettorazzi, M.J., Leonardo, R., Jordan, C.A., Lizcano, D.J., 2015. Integrating current range-wide occurrence data with species distribution models to map the potential distribution of Baird’s Tapir. *Tapir Conserv.* 24, 15–25. doi:10.5281/zenodo.23417

- Seufert, V., Linden, B., Fischer, F., 2009. Revealing secondary seed removers: results from camera trapping. *Afr. J. Ecol.* 48, 914–922.
- Smythe, N., 1986. Competition and resource partitioning in the guild of neotropical terrestrial frugivorous mammals. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17, 169–188.
- Stevenson, P.R., Link, A., 2010. Fruit preferences of *Ateles belzebuth* in Tinigua Park, Northwestern Amazonia. *Int. J. Primatol.* 31, 393–407. doi:10.1007/s10764-010-9392-8
- Tobler, M., 2010. Camera Base User Guide 1–32.
- Tobler, M.W., Carrillo-Percegué, S.E., Leite-Pitman, R., Mares, R., Powell, G., 2008. An evaluation of camera traps for inventorying large- and medium-sized terrestrial rainforest mammals. *Anim. Conserv.* 11, 169–178. doi:10.1111/j.1469-1795.2008.00169.x
- Tobler, M.W., Janovec, J.P., Cornejo, F., 2010. Frugivory and seed dispersal by the lowland tapir *Tapirus terrestris* in the Peruvian Amazon. *Biotropica* 42, 215–222. doi:10.1111/j.1744-7429.2009.00549.x
- Towns, V.S., 2013. Monitoreo poblacional de algunas especies de mamíferos de talla mayor en la selva alta perennifolia del estado de Chiapas, México. Master's thesis. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Trolliet, F., Huynen, M.C., Vermeulen, C., Hambuckers, A., 2014. Use of camera traps for wildlife studies: A review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 18, 446–454.
- Vidal, M.M., Pires, M.M., Guimarães, P.R., 2013. Large vertebrates as the missing components of seed-dispersal networks. *Biol. Conserv.* 163, 42–48. doi:10.1016/j.biocon.2013.03.025
- Yasuda, M., Miura, S., Ishii, N., Okuda, T., Hussein, N.A., 2005. Fallen fruits and terrestrial vertebrate frugivores: a case study in a lowland tropical rainforest in Peninsular Malaysia., in: Forget, P.M., Lambert, J.E., Hulme, P.E., Vander Wall, S.B. (Eds.), *Seed Fate: Predation, Dispersal and Seedling establishment*. CABI, Wallingford, pp. 151–174.
- Young, H.S., Dirzo, R., Helgen, K.M., McCauley, D.J., Billeter, S.A., Kosoy, M.Y., Osikowicz, L.M., Salkeld, D.J., Young, T.P., Dittmar, K., 2014. Declines in large wildlife increase landscape-level prevalence of rodent-borne disease in Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 7036–41. doi:10.1073/pnas.1404958111
- Zapata, S.C., Travaini, A., Martínez-Peck, R., 2001. Seasonal feeding habits of the Patagonian hog-nosed skunk *Conepatus humboldtii* in southern Patagonia. *Acta Theriol. (Warsz)*. 46, 97–102. doi:10.1007/BF03192421

**Table 1.** Mammal species recorded at focal trees by camera-traps; n = number of individuals monitored of each tree species/year. Dietary guilds are taken from Medellín (1994); C = carnivore, F = frugivore, G = grazer, H = herbivore, O = omnivore. Letters indicate if recorded species had a direct interaction (Y) or not (N) with fruits.

Species	2013		2014	
	<i>L. platypus</i> (n = 3)	<i>L. platypus</i> (n = 6)	<i>P. sapota</i> (n = 4)	Guilds
<i>Conepatus semistriatus</i>	-	-	Y	F/O
<i>Cuniculus paca</i>	Y	Y	Y	F/H
<i>Dasyprocta punctata</i>	Y	Y	Y	F/H
<i>Didelphis marsupialis</i>	Y	-	Y	F/O
<i>Eira barbara</i>	Y	Y	Y	C
<i>Leopardus pardalis</i>	-	-	N	C
<i>Leopardus weidi</i>	-	N	-	C
<i>Mazama temama</i>	N	N	N	H/G
<i>Nasua narica</i>	Y	Y	Y	F/O
<i>Panthera onca</i>	N	-	-	C
<i>Pecari tajacu</i>	Y	Y	Y	F/H
<i>Procyon lotor</i>	-	N	N	F/O
<i>Tapirus bairdii</i>	Y	Y	Y	F/H
Total	9	9	11	

## Figure captions

**Fig. 1** Rarefaction curves showing accumulated species richness of mammal ensembles recorded at *L. platypus* and *P. sapota* focal trees in 2014. The vertical dashed line indicates sampling effort at which the rarefied richness comparison was made. Black and gray hyphens correspond to 95% confidence intervals. Continuous lines in accumulation curves correspond to extrapolated species richness. “★” signs indicate Jack1 estimations of species richness for each curve.

**Fig. 2** Mammals recorded interacting with fruits of focal trees of *Pouteria sapota* and *Licania platypus* on the forest floor of the tropical rain forest in the Montes Azules Biosphere Reserve in the state of Chiapas, Mexico. From left to right: (first row) *Conepatus semistriatus*, *Cuniculus paca*; (second row) *Dasyprocta punctata*, *Didelphis marsupialis*; (third row) *Eira barbara*, *Nasua narica*; (fourth row) *Pecari tajacu*, *Tapirus bairdii*.

**Fig. 3** Ordination of mammal species interacting with fruits of *L. platypus* and *P. sapota* focal trees in the 2014 fruiting season. Stress = 0.072. Ellipses represent 0.95 confidence intervals. Species codes: Cose = *Conepatus semistriatus*, Cupa = *Cuniculus paca*, Dapu = *Dasyprocta punctata*, Dima = *Didelphis marsupialis*, Eiba = *Eira barbara*, Nana = *Nasua narica*, Peta = *Pecari tajacu*, Taba = *Tapirus bairdii*.

**Fig. 4** Frugivore ensemble recorded in *L. platypus* (top) and *P. sapota* (bottom). Arrow thickness indicates the strength of the interaction. Species codes: Cose = *Conepatus semistriatus*, Cupa = *Cuniculus paca*, Dapu = *Dasyprocta punctata*, Dima = *Didelphis marsupialis*, Eiba = *Eira barbara*, Nana = *Nasua narica*, Peta = *Pecari tajacu*, Taba = *Tapirus bairdii*. The box in the upper right corner shows some examples of IS values.

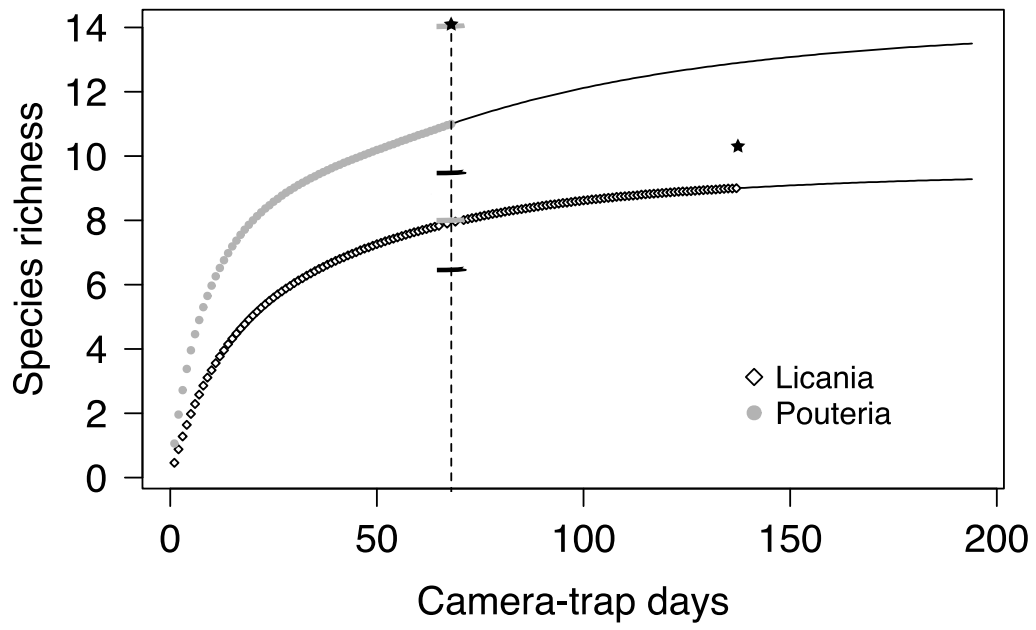


Fig. 1





Fig. 2

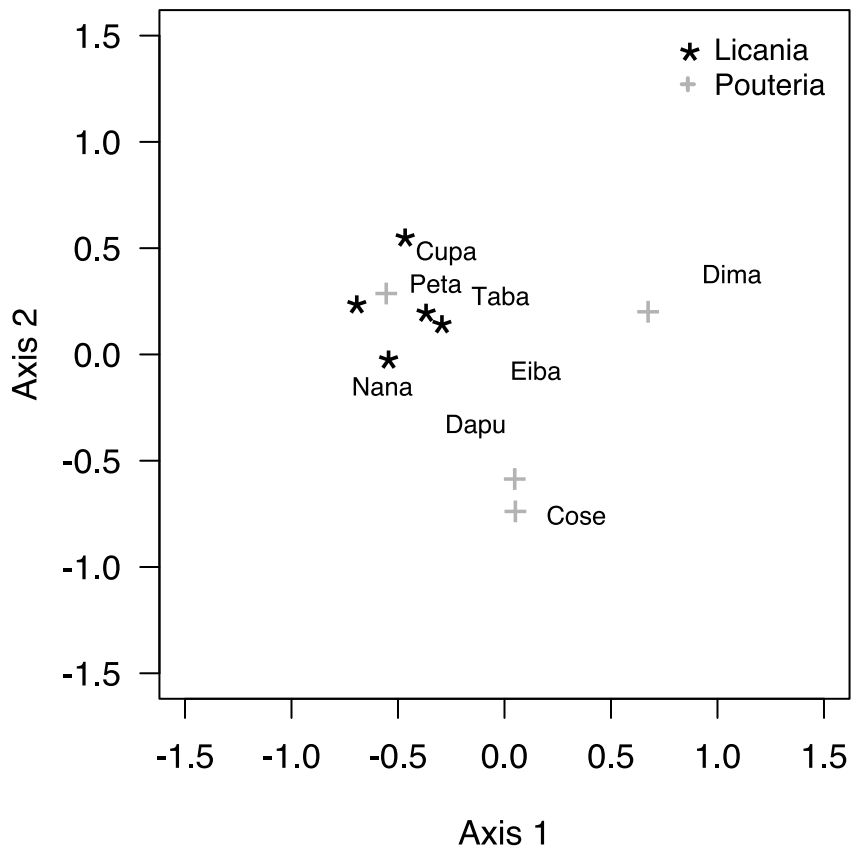


Fig. 3

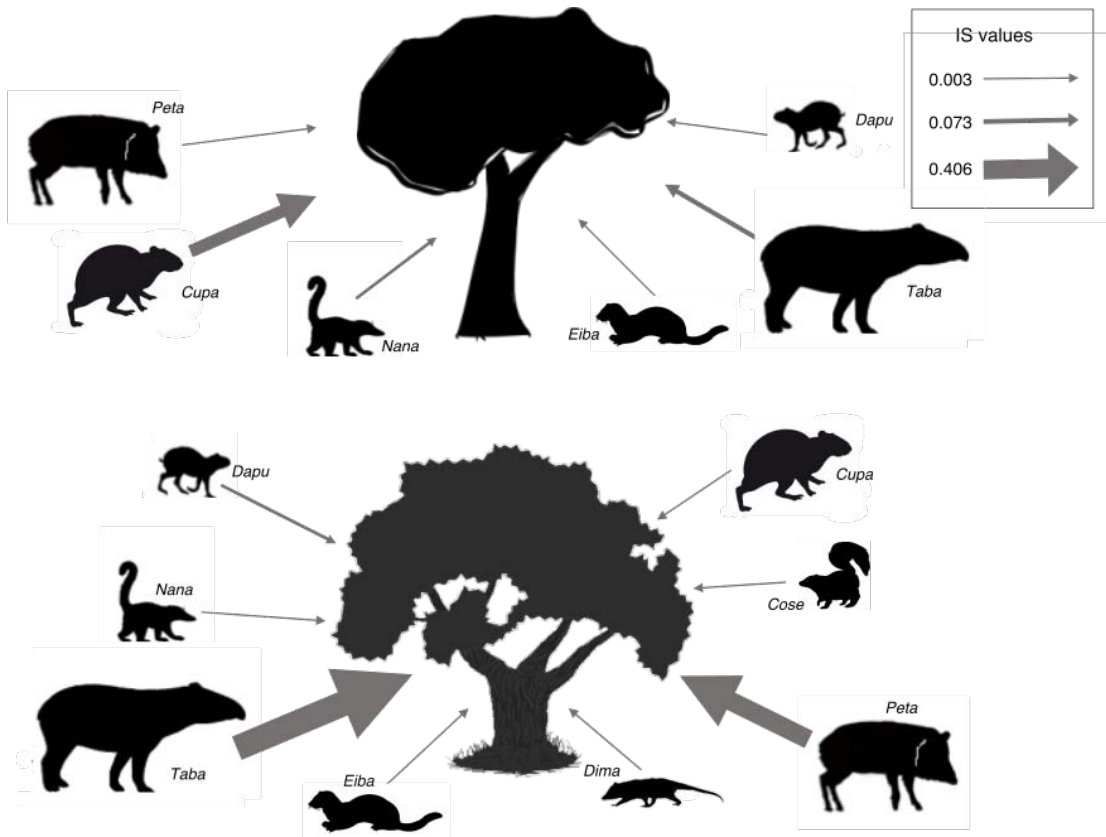
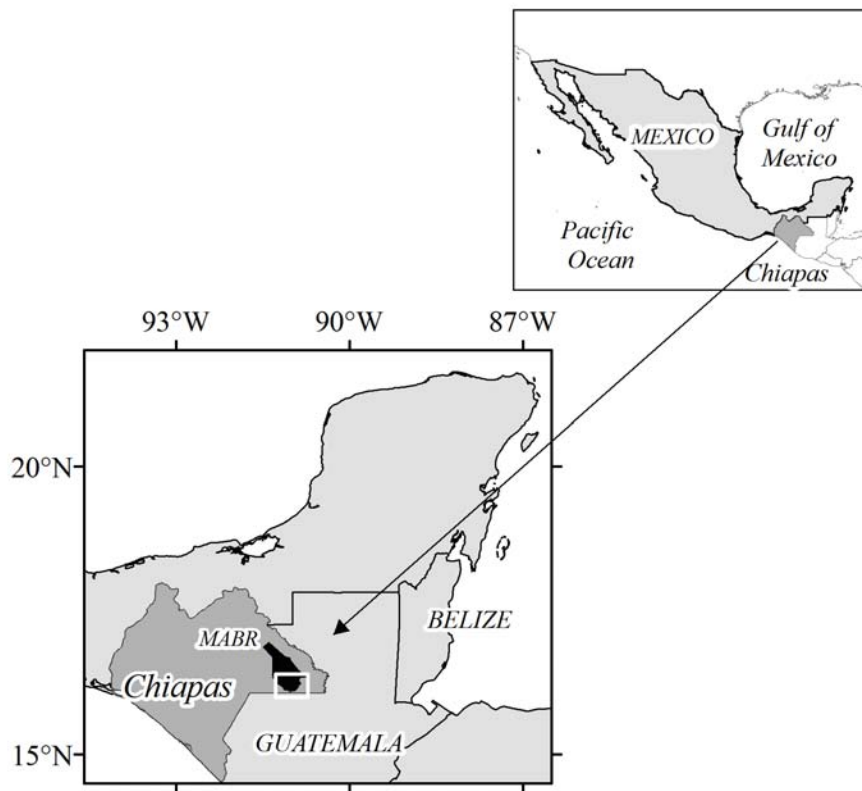


Fig. 4

Supplementary material



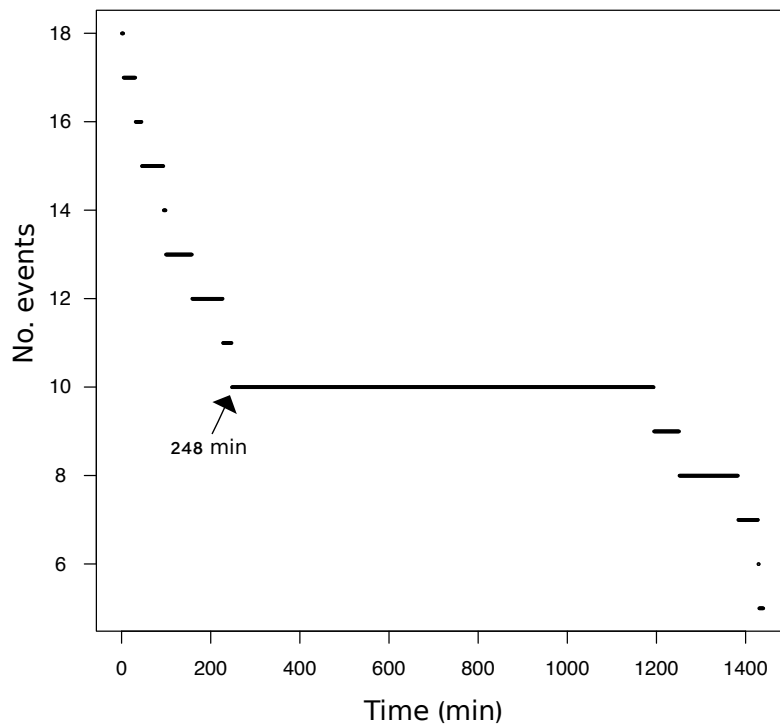
**Figure S1.** Location of the study area in the state of Chiapas, southeast Mexico. MABR = Montes Azules Biosphere Reserve.

**Table S1.** Independence times used to group pictures of each mammal species in each fruiting season. These times were calculated using a simple simulation coded in the R program (see Materials and methods for further details).

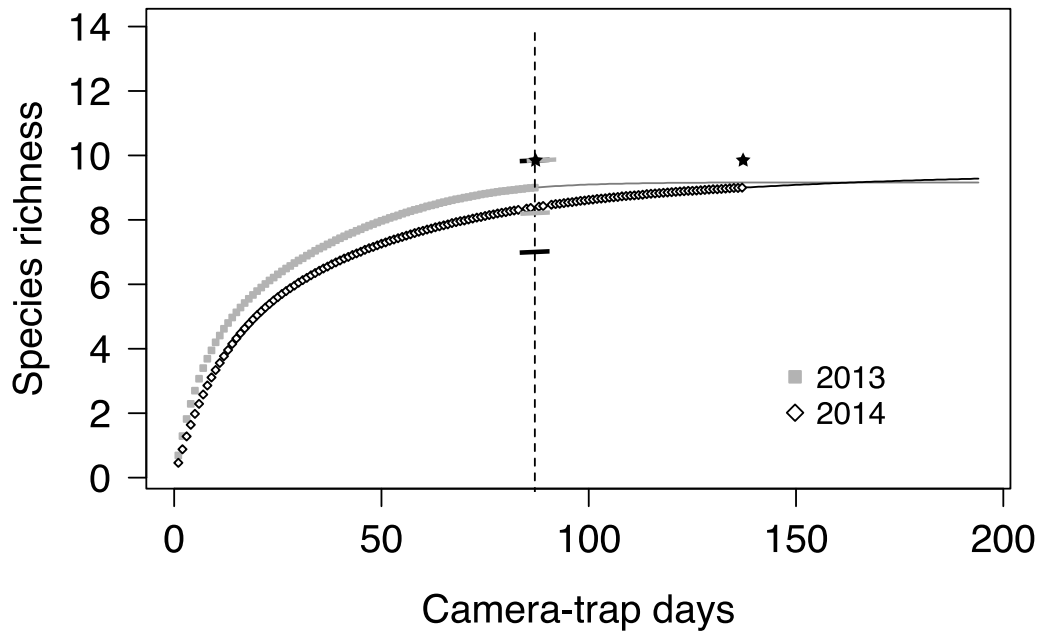
Species	Time (min)	
	2013	2014
<i>Conepatus semistriatus</i>	-	98
<i>Cuniculus paca</i>	51	248
<i>Dasyprocta punctata</i>	91	95
<i>Didelphis marsupialis</i>	4	14
<i>Leopardus pardalis</i>	-	14
<i>Leopardus weildi</i>	-	14
<i>Eira barbara</i>	14	14
<i>Mazama temama</i>	4	14
<i>Nasua narica</i>	395	74
<i>Panthera onca</i>	4	-
<i>Pecari tajacu</i>	55	325
<i>Procyon lotor</i>	-	14
<i>Tapirus bairdii</i>	518	342

**Table S2.** Frequency of visitation (number of events) of mammals to focal fruiting trees of *Pouteria sapota* and *Licania platypus* in 2013 and 2014 sampling seasons; N = number of individuals monitored of each tree species.

Species	2013		2014	
	<i>L. platypus</i> (n = 3)	<i>L. platypus</i> (n = 6)	<i>P. sapota</i> (n = 4)	Total / Species
Birds				
<i>Crax rubra</i>	1	6		7
<i>Tinamu major</i>			1	1
Mammals				
<i>Conepatus semistriatus</i>			8	8
<i>Cuniculus paca</i>	14	16	12	42
<i>Dasyprocta punctata</i>	2	5	27	34
<i>Didelphis marsupialis</i>	3		1	4
<i>Eira barbara</i>	2	4	6	12
<i>Leopardus pardalis</i>			1	1
<i>Leopardus weildi</i>		1		1
<i>Mazama temama</i>	3	2	3	8
<i>Nasua narica</i>	20	20	5	45
<i>Panthera onca</i>	1			1
<i>Pecari tajacu</i>	7	7	7	21
<i>Procyon lotor</i>		4	1	5
<i>Tapirus bairdii</i>	15	16	14	45
Total/Tree Species	68	81	86	235

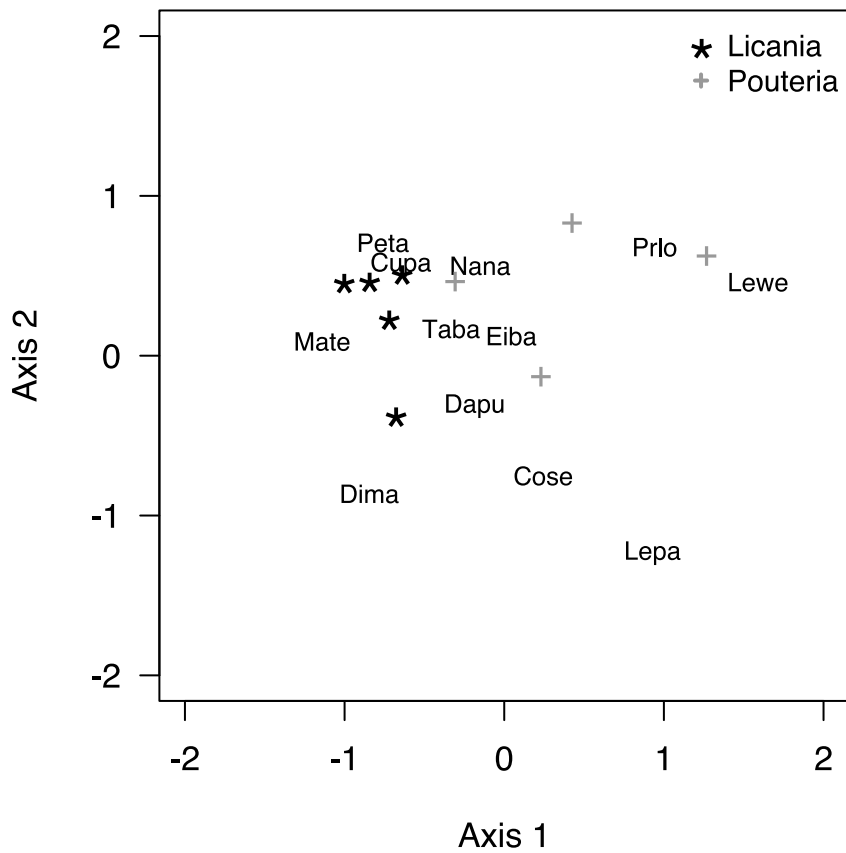


**Figure S2.** Plot illustrating the approach followed to find times to group individual pictures. The minimum time where the variable number of events reached a plateau was chosen to group pictures and is indicated in the figure by an arrow. Grouping times for each mammal species in each fruiting season are shown in Table S2.



**Figure S3.** Rarefaction curves showing accumulated species richness of mammal ensembles recorded at *L. platypus* focal trees in 2013 and 2014. The vertical dashed line indicates sampling effort at which the rarefied richness comparison was made. Black and gray hyphens correspond to 95% confidence intervals. Continuous lines in accumulation curves correspond to extrapolated species richness. “★” signs indicate Jack1 estimations of species richness for each curve estimator.





**Figure S4.** Ordination of mammal species recorded at *L. platypus* and *P. sapota* trees in 2014 fruiting season. Stress = 0.070. Ellipses represent 0.95 confidence intervals. Species code: Cose = *Conepatus semistriatus*, Cupa = *Cuniculus paca*, Dapu = *Dasyprocta punctata*, Dima = *Didelphis marsupialis*, Eiba = *Eira barbara*, Lepa = *Leopardus pardalis*, Lewe = *Leopardus weidii*, Mate = *Mazama temama*, Nana = *Nasua narica*, Peta = *Pecari tajacu*, Prlo = *Procyon lotor*, Taba = *Tapirus bairdii*.

### CAPÍTULO III

## **Experimental defaunation of terrestrial mammalian herbivores alters tropical rainforest understorey diversity**

Angela A. Camargo-Sanabria, Eduardo Mendoza,  
Roger Guevara, Miguel Martínez-Ramos and Rodolfo Dirzo

*Publicado en: Proceedings of the Royal Society, B 282: 20142580.*



Research

**Cite this article:** Camargo-Sanabria AA, Mendoza E, Guevara R, Martínez-Ramos M, Dirzo R. 2015 Experimental defaunation of terrestrial mammalian herbivores alters tropical rainforest understorey diversity. *Proc. R. Soc. B* **282**: 20142580.  
<http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.2580>

Received: 21 October 2014

Accepted: 1 December 2014

**Subject Areas:**

ecology

**Keywords:**

anthropogenic impact, tropical diversity, plant–mammal interactions, tropical rainforest mammals

**Author for correspondence:**

Eduardo Mendoza

e-mail: [mendoza.mere@gmail.com](mailto:mendoza.mere@gmail.com)

Electronic supplementary material is available at <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.2580> or via <http://rspb.royalsocietypublishing.org>.

# Experimental defaunation of terrestrial mammalian herbivores alters tropical rainforest understorey diversity

Angela A. Camargo-Sanabria<sup>1</sup>, Eduardo Mendoza<sup>2</sup>, Roger Guevara<sup>3</sup>, Miguel Martínez-Ramos<sup>1</sup> and Rodolfo Dirzo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro 8701, Col. Ex-Hacienda de San José de la Huerta, Morelia, MICH 58190, Mexico

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Avenida San Juanito Itzicuaró s/n, Col. Nueva Esperanza, Morelia, MICH 58337, Mexico

<sup>3</sup>Red de Biología Evolutiva, Instituto de Ecología, A.C., Carretera Antigua a Coatepec 351, Col. El Haya, Xalapa, VER 91070, Mexico

<sup>4</sup>Department of Biology, Stanford University, 371 Serra Mall, Stanford, CA 94305, USA

It has been suggested that tropical defaunation may unleash community-wide cascading effects, leading to reductions in plant diversity. However, experimental evidence establishing cause–effect relationships thereof is poor. Through a 5 year enclosure experiment, we tested the hypothesis that mammalian defaunation affects tree seedling/sapling community dynamics leading to reductions in understorey plant diversity. We established plot triplets ( $n = 25$ ) representing three defaunation contexts: terrestrial-mammal enclosure (TE), medium/large mammal enclosure (PE) and open access controls (C). Seedlings/saplings 30–100 cm tall were marked and identified within each of these plots and re-censused three times to record survival and recruitment. In the periods 2010–2011 and 2011–2013, survival was greater in PE than in C plots and recruitment was higher in TE plots than in C plots. Overall, seedling density increased by 61% in TE plots and 23% in PE plots, whereas it decreased by 5% in C plots. Common species highly consumed by mammals (e.g. *Brosimum alicastrum* and *Ampelocera hottlei*) increased in their abundance in TE plots. Rarefaction curves showed that species diversity decreased in TE plots from 2008 to 2013, whereas it remained similar for C plots. Given the prevalence of tropical defaunation, we posit this is an anthropogenic effect threatening the maintenance of tropical forest diversity.

## 1. Introduction

Unsustainable vertebrate overexploitation (hunting, illegal trading and poaching), combined with reductions in their natural habitat extent and connectivity have led to the proliferation of the so-called ‘empty forest syndrome’ throughout the tropics [1,2]. Increasing evidence is unveiling the magnitude of the anthropogenic extirpation of vertebrates (primarily top predators and large-bodied species) from otherwise seemingly undisturbed tropical forests [2–4] and the myriad of cascading effects such defaunation can have on tropical ecosystems [5–8]. For example, it is known that the loss of medium and large body-sized vertebrates reduces seed dispersal distances, especially of large-seeded plants [9,10]. Moreover, extirpation of vertebrate seed predators and herbivores favours escape of large seeds and their seedlings from vertebrate attack [9,11–13]. In addition, defaunation affects the role of animal trampling as a source of seedling damage and mortality [14,15]. Some evidence, based on a reduced number of sites, plant species, and life-forms (e.g. large-seeded trees and palms) [13,16,17] suggests that altered patterns of seed dispersal, predation or herbivory can alter plant recruitment. For example, mammalian herbivores can disrupt plant establishment patterns in forest understories by preferentially consuming more abundant or dominant species [13,18], or by reducing dispersal limitation [19,20]. Therefore, herbivore defaunation has the

potential to alter understorey plant species diversity and composition [12,21,22]. However, recent reviews show that not only are studies assessing those effects still scant, but also that resulting effects are not consistent [6,23]. This seems to be related, at least partly, to different methodological approaches used in the studies. In particular, a variety of settings have been used as proxies of defaunation, including forest fragments [24], islands [25], forests hunted at different intensities [12] and experimentally excluded plots [26]. However, in some instances, for example when using small forest fragments or islands, effects of abiotic variables can operate as confounding factors [27]. Furthermore, available studies are of variable duration, ranging from a few months [28] to several years [29].

Very recently a few long-term (more than or equal to 3 years) studies have been undertaken using a more directly comparative methodological approach: enclosure devices, to evaluate the impact of mammalian defaunation on understorey plant communities [22,26]. These studies have provided valuable insights on the impact of mammal defaunation on understorey plant communities; yet, the picture emerging from them is still far from complete or may even be biased, because larger herbivores (more than 8 kg) were in low abundance or missing from reference sites owing to biogeographic or anthropogenic factors [22,26]. Moreover, the relative importance of different herbivores (e.g. rodents versus medium and larger animals) is not explored in these studies. Another important complication in studies assessing the impact of mammal defaunation on plant communities is the limited resolution regarding identification of seedlings and saplings (a significant problem in rich tropical forests) [30]. Therefore, while collectively these studies offer very valuable insights on the consequences of defaunation on plant communities, there remains an urgent need to conduct controlled long-term, experimental studies with high plant-identification resolution, to garner a more comprehensive view of the potential of herbivore mammal defaunation to impact tropical understorey plant diversity and structure.

Here, we present results of a 5 year experimental study in a tropical rainforest site in southeast Mexico, aimed at mimicking herbivore mammal defaunation by establishing enclosures in which we distinguish between the role of large-bodied mammals and small mammals (i.e. rodents). Differential defaunation (*sensu* [8]) is typically observed in tropical forests, whereby human impact negatively affects medium and large species, while small mammals are not impacted or are even benefited [5,9]. Specifically, we assess the effects of excluding terrestrial herbivore/granivore mammals on the underlying dynamics of the regenerative tree community (i.e. rates of individual seedling/sapling survival and recruitment) and the resulting impact on the structure (plant density and species diversity) of such communities. We test the predictions that: (i) exclusion of mammals will increase the survival and recruitment of tree seedlings/saplings; (ii) species that are naturally abundant in the understorey and constitute an important feeding resource for herbivore/granivore mammals (e.g. large-seeded plants and their seedlings/saplings) will be benefitted by the exclusion of mammals leading to greater plant density but lower species diversity in the understorey; (iii) terrestrial-mammal enclosure (TE) plots will have greater effects than medium/large mammal enclosure (PE) plots on plant dynamics owing to the fact that TE plots combine the effect of the absence of small rodents (mainly granivores) and medium and large mammals (granivores and also browsers), and as a consequence, we expect to see a greater change in species richness and

diversity in TE plots than in PE plots. Moreover, we examined whether changes in species richness and diversity among treatments were related to the increase of rare species or release of already abundant species. Given the current prevalence of anthropogenic vertebrate defaunation [8] and the characteristics of our experimental manipulations (as discussed above), our results should advance the understanding of the ecology of defaunation and be of broad significance.

## 2. Material and methods

### (a) Study site

The study site is the Montes Azules Biosphere Reserve (MABR) in southern Mexico. MABR covers 331 200 ha of tropical rainforest and harbours 112 mammalian species including the entire guild of understorey herbivores and granivores [31–34] (electronic supplementary material, figure S1).

### (b) Experimental design and seedling/sapling censuses

In January 2008, we established 25 clusters of three  $6 \times 3$  m plots (triplets) with a minimum separation of 60 m and a maximum of 4 km (mean = 1.6 km). All triplets were placed away from trails and located on alluvial terraces of flat fertile soil, along the southern limit of the MABR (electronic supplementary material, figure S1). Within each triplet, we randomly assigned the position of the following treatments: open access to all mammals (controls = C), enclosure of large but not small non-volant mammals (partial enclosure = PE) and enclosure of small and large non-volant mammals (total enclosure = TE) (electronic supplementary material, text S1). We identified and marked, with aluminium tags, all tree seedling/saplings between 30 and 100 cm, located in  $4 \text{ m}^2$  central subplots within each plot, to avoid or minimize edge effects. We re-censused all subplots in December 2010, November 2011 and January 2013, when we recorded survival of tagged individuals and identified and tagged new recruits (individuals reaching 30 cm in height). We restricted our analyses to 21 triplets that did not suffer any damage due to tree falls or floods during the course of the study.

### (c) Mammal presence in the study area

We recorded presence and relative abundance of mammalian fauna in our study area through (i) track detection in sand quadrats established adjacently to the plots, (ii) camera trapping, and (iii) compilation of information resulting from independent on-site studies (electronic supplementary material, text S2).

### (d) Statistical analyses

We examined baseline plant density, species richness and diversity differences among treatments at the onset of the experiment, using a one-way ANOVA. To examine changes in observed species richness and diversity (Shannon index) over time, we applied a repeated measurements linear mixed effects model with treatments and time as fixed effects and plot clusters nested within treatments as a random effect. To analyse the impact of treatments on plant survival, recruitment and density, we divided the corresponding data in three inter-census periods and fitted a Jolly–Seber open population model. This approach, successfully used in studies on seedling dynamics, accounts for tag loss, which in our case was estimated at 16% overall [30]. Spatial autocorrelation among each triplet's plant dynamics was assessed via a Mantel test, using physical distances and plant survival rates of control plots as variables. To analyse changes in plant richness and diversity within treatments between the onset and the end of the experiment, we calculated

rarefaction curves with 95% confidence intervals for the years 2008 and 2013 based on raw plant abundance.

We conducted an analysis of covariance to examine if observed changes in plant abundance were proportional to initial abundances across treatments, or if species with an initial higher abundance were more benefited by mammal exclusion. For this analysis, we only included plant species that were present at the onset and end of the experiment in the three treatments. Additionally, we performed a contingency analysis to examine whether the relative frequency of rare and abundant species (Importance Value Index less than 1.30 and more than 2.9, respectively) changed with time. A full description of statistical analyses is given in the electronic supplementary material, text S3.

### 3. Results

#### (a) Overall characteristics of the plant community

We tagged and followed the fate of 502 tree seedlings/saplings, 97% of which we were able to identify to species level ( $n = 71$ ) representing 33 families. The most common recorded species at the onset of the experiment were *Brosimum alicastrum* and *Ampelocera hottlei*, which accounted for 23% and 10% of the initially tagged plants, respectively.

Plant density, species richness and Shannon's diversity index did not differ among treatments at the onset of the experiment ( $F_{2,60} = 1.4$ ,  $p = 0.254$ ;  $F_{2,52} = 2.3$ ,  $p = 0.106$ ; and  $F_{2,52} = 2.7$ ,  $p = 0.079$ ; respectively). Species abundance in each treatment showed similar lognormal distributions (electronic supplementary material, figure S2).

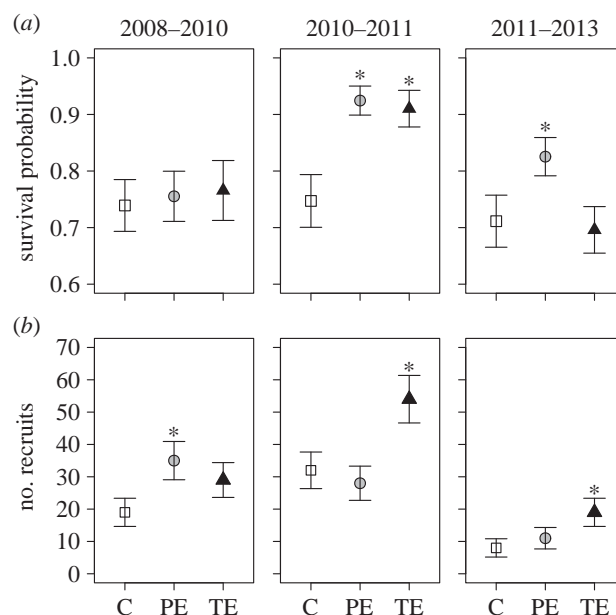
#### (b) Mammal presence in the study area

We recorded evidence of the activity of 23 mammalian species, including the most important herbivores and granivores historically known for the region: tapir, peccaries, paca, agouti and deer (electronic supplementary material, table S1). Paca and tapir were consistently the most frequent understorey mammalian herbivores across plot clusters (electronic supplementary material, figure S3).

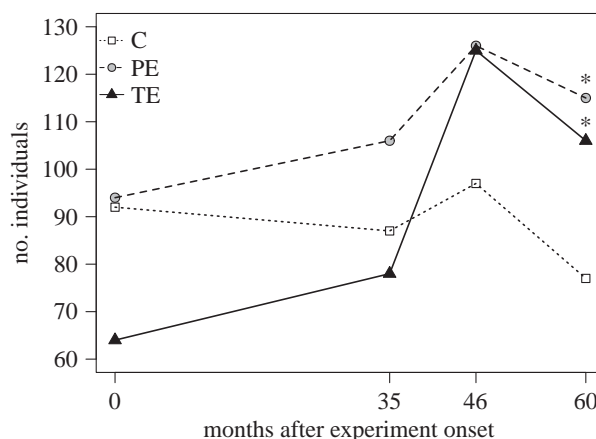
#### (c) Effects of experimental defaunation on plant dynamics: survival, recruitment and density

We did not detect evidence of spatial autocorrelation in the plant dynamics of cluster plots using the control's plant survival as an analysis variable ( $r = -0.05$ ,  $p = 0.923$ ). Analyses based on Jolly–Seber estimates showed that plant survival did not differ among treatments during the 2008–2010 period. However, in the 2010–2011 period, survival was significantly higher in PE ( $t_{317} = 3.3$ ,  $p < 0.001$ ) and TE plots ( $t_{315} = 2.9$ ,  $p = 0.002$ ) than in C plots. For the 2011–2013 period, only plant survival in PE plots was significantly higher than in C plots ( $t_{317} = 2.0$ ,  $p = 0.023$ ; figure 1a). By contrast, plant recruitment was higher in PE plots than in C plots ( $t_{317} = 2.2$ ,  $p = 0.015$ ) during the 2008–2010 period. In the 2010–2011 and 2011–2013 periods, only recruitment in TE plots was higher than in C plots (2010–2011:  $t_{315} = 2.4$ ,  $p = 0.009$ ; 2011–2013:  $t_{315} = 2.1$ ,  $p = 0.018$ ; figure 1b).

Massive production of *Vatairea lundellii* fruits occurred in the year 2011 affecting one experimental triplet but ensuring that more than 60% of all new recruits belonged to this species. To assess the influence of this event on plant survival and recruitment patterns, we repeated the above described



**Figure 1.** Temporal changes in (a) survival probability and (b) tree seedling/sapling recruitment among treatments for the three periods of study (values come from Jolly–Seber open population models  $\pm 1$  s.e.). C, control plot; PE, partial exclusion; TE, total exclusion. Asterisks (\*) indicate significant differences compared with control ( $p < 0.05$ ).

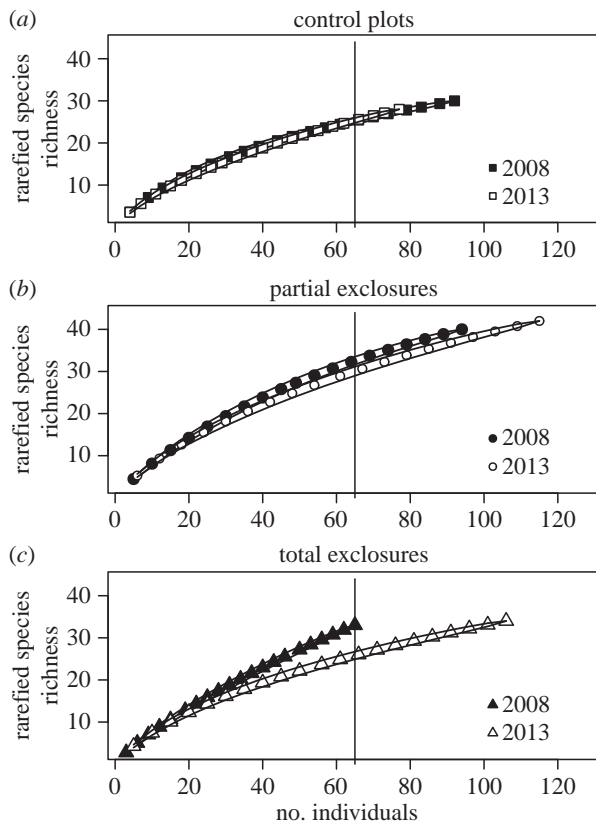


**Figure 2.** Plant density for each treatment estimated using Jolly–Seber open population models for 0, 35, 46 and 60 months after the experiment was initiated in MABR southern Mexico. C, control plot; PE, partial exclusion; TE, total exclusion. Asterisks (\*) indicate significant differences compared with control ( $p < 0.05$ ).

analyses excluding this species. We found that survival was no longer different between control and exclusion plots in the 2011–2013 period and we did not find any effect in terms of recruitment patterns (see the electronic supplementary material, figure S4).

Observed patterns of plant survival and recruitment caused density to increase during the course of the experiment by 23% in PE plots and by 61% in TE plots. By contrast, plant density was slightly reduced (by 5%) in C plots. Therefore, final density in PE and TE was, respectively, 1.5 ( $t_{317} = 61.3$ ,  $p < 0.001$ ) and 1.4 ( $t_{315} = 273.2$ ,  $p < 0.001$ ) times greater than that of C plots (figure 2). These results were not affected when excluding *V. lundellii* seedlings (electronic supplementary material, figure S4).





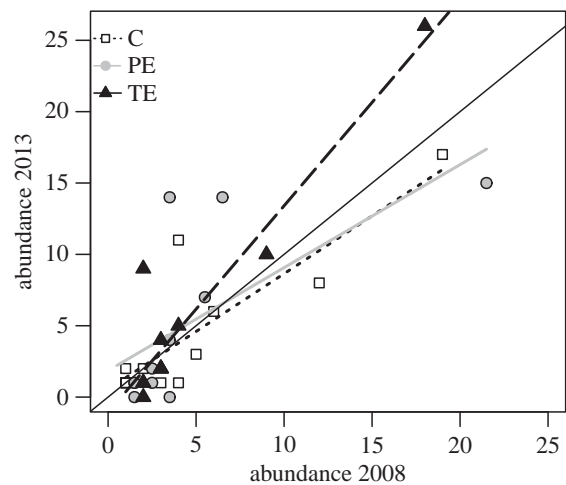
**Figure 3.** Rarefaction curves showing changes in species richness between 2008 and 2013 in each of the experimental treatments. Continuous lines represent 95% confidence intervals. Vertical lines show the minimum number of individuals found in any treatment.

#### (d) Effect of treatments on seedling/sapling species richness and diversity

There was a significant interaction effect of time and treatment on species richness and Shannon diversity ( $F_{2,180} = 6.6$ ,  $p < 0.001$ ;  $F_{2,168} = 7.3$ ,  $p < 0.001$ , respectively). Species richness and diversity showed an increasing trend in the excluded plots, whereas in the control plots they remained the same (electronic supplementary material, figure S5). However, for a fixed number of tree seedlings/saplings, rarefied species richness (figure 3c) in TE plots was significantly lower in 2013 than in 2008 (no overlap in 95% confidence intervals). In PE plots, overlap in 95% confidence intervals was partial for rarefied species richness (figure 3b). Finally, there was a complete overlap in 95% confidence intervals in C plots (figure 3a). Diversity (Shannon Index) exhibited the same pattern (electronic supplementary material, figure S6). These results were similar when Fisher's  $\alpha$  was used.

#### (e) Effects of experimental defaunation on dominant and rare tree species

The increase in abundance of relatively common species was greater in TE than in PE and C plots (slope of TE plots was significantly greater than that observed in PE plots,  $t_{27} = -2.4$ ,  $p = 0.023$  and in C plots,  $t_{27} = -2.1$ ,  $p = 0.047$ , and also marginally greater than 1,  $t_{27} = 1.9$ ,  $p = 0.062$ ; figure 4). We did not observe changes in the frequency of dominant or rare species but the number of species that recruited exclusively during the course of the study was higher in C plots (10) than in PE (3) or TE plots (4).



**Figure 4.** Initial (2008) and final (2013) abundances of 11 plant species present in all treatments of the experiment of mammalian defaunation conducted in MABR. C, control plot; PE, partial exclusion; TE, total exclusion. Continuous black line corresponds to changes directly proportional to initial abundance (slope = 1). Only the slope of TE plots is significantly different from that corresponding to C plots. Points are slightly shifted to avoid complete overlap among them. A full list of species used for this analysis is provided in the electronic supplementary material, table S2.

## 4. Discussion

Our findings show that activity of mammalian herbivores has a clear impact on the patterns of seedling/sapling survival and recruitment, which translates into changes in plant density, species richness and diversity in the understorey plant community. Evidence was particularly strong when all mammals were excluded, indicating the importance of different groups of herbivores in maintaining plant diversity in the understorey. Indeed, our results show that in TE plots, density increased by 61% and diversity (controlling for plant density) decreased by 22%.

We observed a variation in the effects of treatments on seedling survival and recruitment over the course of the experiment. In the 2010–2011 period, survival in PE and TE plots was similar but greater than in the observed in C plots, suggesting that medium/large mammals were the main animals responsible for killing seedlings and saplings by consuming them or as a consequence of trampling. In the 2011–2013 period, only survival in PE plots was significantly higher than in C plots. However, when *V. lundellii* seedlings were excluded in this analysis, we found that differences among treatments were in the same direction as those observed in the 2010–2011 period (i.e. higher survival in PE and TE plots than in C plots), although they were not significant (see the electronic supplementary material, figure S4). An explanation for this lack of significance might be related to a reduction in medium/large mammalian herbivore abundance during the 2011–2013 period. This is supported by the camera-trapping data, which indicates that capture frequency (picture records/100 camera-trapping days) of species such as paca, collared peccary and white-lipped peccary decreased in that period by 29%, 39% and 100%, respectively, when compared with data from a study conducted 1 year before [33,34].

Effects of treatments on seedling recruitment also varied among periods. In 2008–2010, seedling recruitment was higher only when medium/large mammals were absent. However, in the period 2010–2011, only TE plots underwent

increased seedling recruitment. In the last period (2011–2013), results were similar (i.e. greater recruitment only in TE plots) but less contrasting. These results are consistent with evidence of small rodents representing an important source of mortality for seeds and young seedlings [35–37]. Again, as in the case of survival, changes in the magnitude of effect of the exclosures might be related to mammal fluctuations (in this case small rodents), a commonly documented feature of tropical forests [36,38].

Observed effects at the plant population level (survival, recruitment and density) altered the structure and composition of seedling/sapling communities. When we rarefied species richness to control for contrasts in plant density among treatments, we detected that mammal absence negatively affected plant richness. By contrast, the impact of mammal exclosure on non-rarefied species richness was positive. These contrasting results might be related to the activity of canopy vertebrate seed dispersers. Arrival of seeds through primary dispersal was not interrupted in our exclosure treatments, something that probably helped the accumulation of plant species in excluded plots protected from the activity of herbivore mammals. However, in a more realistic defaunation scenario, primary seed dispersal is expected to also be affected by the absence of medium and large arboreal animals (e.g. primates, large birds, etc.), reducing the amplitude of seed rain shadows and increasing the abundance of locally produced seeds [39,40]. Therefore, real defaunation effects are probably more similar to the effects we observed when rarefied species richness is used.

We observed high variability in the interspecific response to exclosure treatments. However, as we expected, relatively common species (e.g. *B. alicastrum* and *A. hottlei*) had greater increases in abundance than expected given their initial abundance in TE compared with PE and C plots. This result explains in part the decrease in rarefied species diversity observed when all terrestrial mammals are excluded. On the other hand, a set of species with low to intermediate abundances at the onset of the experiment showed a slight to marked increase in both types of exclosures, especially in TE plots. The rank-abundance curve for TE plots in 2013 demonstrates the rise of species such as *Virola koschnyi*, *Inga pavoniana*, *Inga punctata* and *Castilla elastica* (see the electronic supplementary material, figure S2). Finally, we did not find any pattern in relation to the frequency of rare species per treatment, however we detected more exclusive species in C plots than in exclosure plots. Differential response of plant species to defaunation is probably associated with contrasts in life-history traits, including reproductive rates, plant longevity and growth rate. Therefore, these results highlight the need to consider the multiplicity of traits and mechanisms underlying plant responses to defaunation, instead of an approach focused on single traits (e.g. seed size).

Animal surveys conducted during this experiment show that our study site supports a diverse mammalian community (electronic supplementary material, table S1). However, rodents in the genus *Proechimys*, which play an important

role as seed predators in other neotropical forest [41,42], were absent because they are not naturally distributed in Mexico. On the other hand, an ongoing study documenting animal visits to fruiting trees using camera-traps, has found that medium/large body-sized mammals such as tapirs, peccaries and pacas are among the most active in the MABR understorey (A.A.C.S. 2014, unpublished data; electronic supplementary material, figure S3). Therefore, it seems safe to assume our study site is representative of a Neotropical forest with a healthy mammalian community and that seeds and seedlings/saplings in our control plots were exposed to the potential effects of consumption and trampling of these animals. Moreover, the diversity and level of conservation of the mammalian fauna in our study site, particularly large-bodied species such as tapirs and peccaries (white-lipped and collared), contrasts with that reported in other studies in which a similar approach has been undertaken to assess the impacts of defaunation. Those studies, performed in Australia [22] and Brazil [26], found weak or non-existent, respectively, impacts of experimental exclosure of ground-dwelling mammals on seedling diversity but those sites can be regarded as comparatively depauperated or subjected to a long-term defaunation history.

The extent to which the impacts of defaunation we observed in the seedling/sapling community would translate into changes in the composition of mature tree communities remains an open question. Over the long-term, we can expect defaunated forests to undergo reduced diversity if the species that experience an ecological release in the absence of mammal herbivores and granivores become dominant at the understorey. A recent study in Lambir, Borneo, provides some insights into this issue: a large-scale census of a 52 ha plot found that historic vertebrate defaunation correlated with low plant species diversity at the sapling level [43]. Such long-term correlative studies, coupled with experimental manipulations like the ones reported here, support the hitherto largely anecdotal contention that mammalian defaunation has the potential to impact the structure and diversity of understorey plant communities. Also, these studies underscore the urgency of protecting the few forests still retaining a healthy vertebrate community.

**Data accessibility.** Data available from the Dryad digital repository: <http://dx.doi.org/10.5061/dryad.28v87>.

**Acknowledgements.** We thank R. Méndez, B. Chagala, G. Jamangapé, A. Jamangapé, An. Jamangapé, A. Garmendia and J.P. Carbajal for field assistance. The staff of the Chajul Field Station provided invaluable logistical support. Use of facilities during the beginning of this study was facilitated by support from PEMEX to the Chajul Field Station. F. Espinosa and D. Valenzuela provided valuable input, and E. Brenner read and improved a previous draft. Two anonymous reviewers and T. Theimer provided valuable comments on an earlier draft of this paper. This contribution is a partial requirement for the PhD degree of A.A.C.S within the Graduate Program of Biological Sciences, UNAM.

**Funding statement.** A.A.C.S. was supported by a scholarship provided by the Mexican National Council of Science and Technology (CONACYT). This study was funded by grants FE005 from CONABIO and CN-09-347 from UC Mexus-CONACYT.

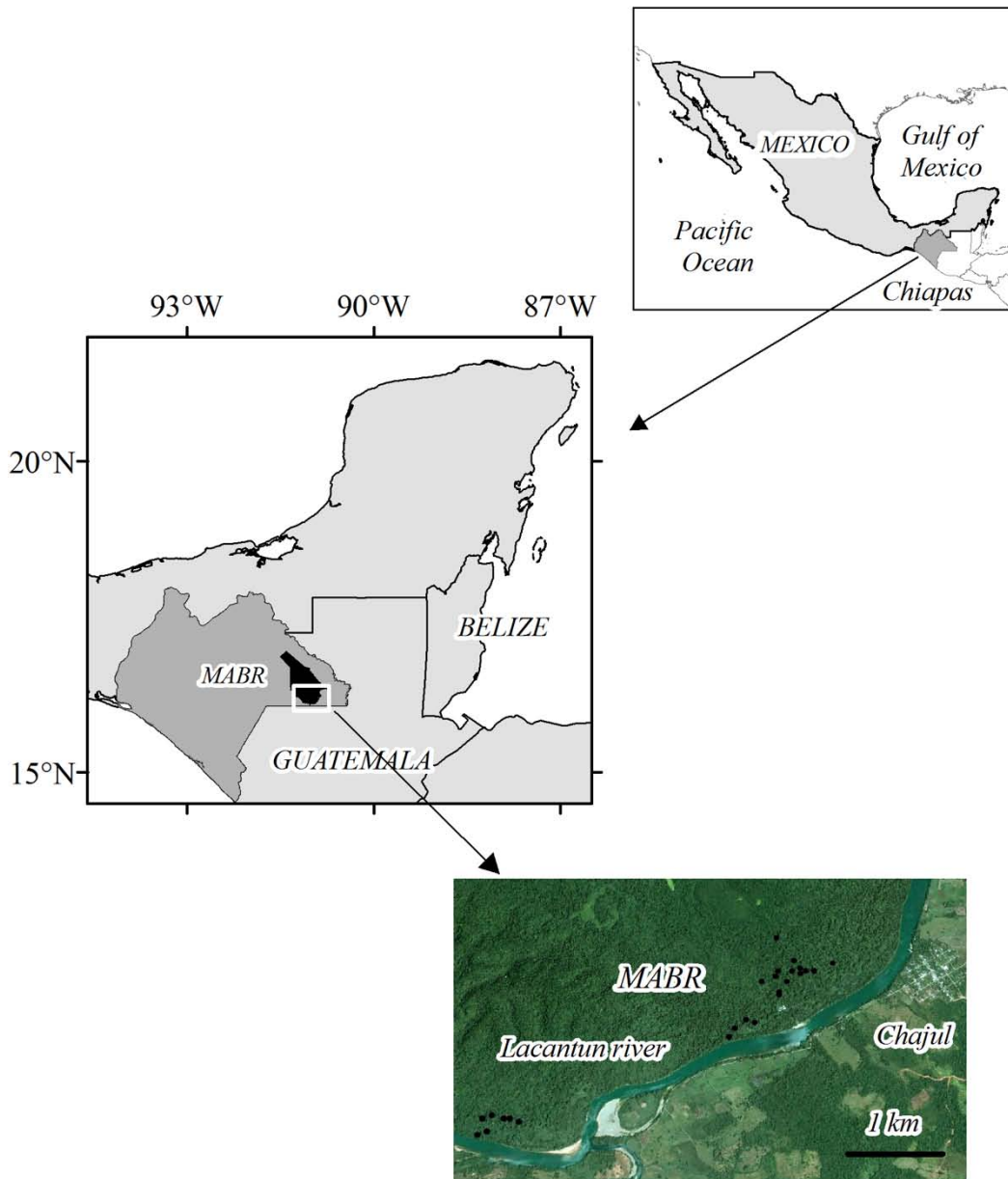
## References

1. Redford KH. 1992 The empty forest. *Bioscience* **42**, 412–422. (doi:10.2307/1311860)
2. Wilkie DS, Bennett EL, Peres CA, Cunningham AA. 2011 The empty forest revisited. *Ann. NY Acad. Sci.* **1223**, 120–128. (doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05908.x)

3. Fa JE, Peres CA, Meeuwij J. 2002 Bushmeat exploitation in tropical forests: an intercontinental comparison. *Conserv. Biol.* **16**, 232–237. (doi:10.1046/j.1523-1739.2002.00275.x)
4. Peres CA, Palacios E. 2007 Basin-wide effects of game harvest on vertebrate population densities in Amazonian forests: implications for animal-mediated seed dispersal. *Biotropica* **39**, 304–315. (doi:10.1111/j.1744-7429.2007.00272.x)
5. Galetti M, Dirzo R. 2013 Ecological and evolutionary consequences of living in a defaunated world. *Biol. Conserv.* **163**, 1–6. (doi:10.1016/j.biocon.2013.04.020)
6. Kurten EL. 2013 Cascading effects of contemporaneous defaunation on tropical forest communities. *Biol. Conserv.* **163**, 22–32. (doi:10.1016/j.biocon.2013.04.025)
7. Estes JA *et al.* 2011 Trophic downgrading of planet Earth. *Science* **333**, 301–306. (doi:10.1126/science.1205106)
8. Dirzo R, Young HS, Galetti M, Ceballos G, Isaac NJB, Collen B. 2014 Defaunation in the Anthropocene. *Science* **345**, 401–406. (doi:10.1126/science.1251817)
9. Wright SJ. 2003 The myriad consequences of hunting for vertebrates and plants in tropical forests. *Perspect. Plant. Ecol.* **6**, 73–86. (doi:10.1078/1433-8319-00043)
10. Muller-Landau HC. 2007 Predicting the long-term effects of hunting on plant species composition and diversity in tropical forests. *Biotropica* **39**, 372–384. (doi:10.1111/j.1744-7429.2007.00290.x)
11. Dirzo R, Mendoza E, Ortiz P. 2007 Size related differential seed predation in a heavily defaunated neotropical rain forest. *Biotropica* **39**, 355–362. (doi:10.1111/j.1744-7429.2007.00274.x)
12. Dirzo R, Miranda A. 1991 Altered patterns of herbivory and diversity in the forest understory: a case study of the possible consequences of contemporary defaunation. In *Plant–animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions* (eds PW Price, TM Lewinsohn, GW Fernandes, WW Benson), pp. 273–287. New York, NY: John Wiley and Sons.
13. Silman MR, Terborgh JW, Kiltie RA. 2003 Population regulation of a dominant rain forest tree by a major seed predator. *Ecology* **84**, 431–438. (doi:10.1890/0012-9658(2003)084[0431:PROADR]2.0.CO;2)
14. Uusimaa H. 2004 Consequences of defaunation: variation in the intensity of trampling in the understory of two Mexican rain forests of contrasting conservation. Master's thesis, University of Helsinki, Helsinki, Finland.
15. Roldán AI, Simonetti JA. 2001 Plant–mammal interactions in tropical Bolivian forests with different hunting pressures. *Conserv. Biol.* **15**, 617–623. (doi:10.1046/j.1523-1739.2001.015003617.x)
16. Wright SJ, Zeballos H, Domínguez I, Gallardo MM, Moreno MC, Ibáñez R. 2000 Poachers alter mammal abundance, seed dispersal, and seed predation in a neotropical forest. *Conserv. Biol.* **14**, 227–239. (doi:10.1046/j.1523-1739.2000.98333.x)
17. Wright SJ, Duber HC. 2001 Poachers and forest fragmentation alter seed dispersal, seed survival, and seedling recruitment in the palm *Attalea butyracea*, with implications for tropical tree diversity. *Biotropica* **33**, 583–595. (doi:10.1111/j.1744-7429.2001.tb00217.x)
18. Royo AA, Carson WP. 2005 The herb community of a tropical forest in central Panamá: dynamics and impact of mammalian herbivores. *Oecologia* **145**, 66–75. (doi:10.1007/s00442-005-0079-3)
19. Forget P, Jansen PA. 2007 Hunting increases dispersal limitation in the tree *Carapa procera*, a nontimber forest product. *Conserv. Biol.* **21**, 106–113. (doi:10.1111/j.1523-1739.2006.00590.x)
20. Wang BC, Sork VL, Leong MT, Smith TB. 2007 Hunting of mammals reduces seed removal and dispersal of the Afrotropical tree *Antrocaryon klaineianum* (Anacardiaceae). *Biotropica* **39**, 340–347. (doi:10.1111/j.1744-7429.2007.00275.x)
21. Ickes K, Dewalt SJ, Appanah S. 2001 Effects of native pigs (*Sus scrofa*) on woody understory vegetation in a Malaysian lowland rain forest. *J. Trop. Ecol.* **17**, 191–206. (doi:10.1017/S0266467401001134)
22. Theimer TC, Gehring CA, Green PT, Connell JH. 2011 Terrestrial vertebrates alter seedling composition and richness but not diversity in an Australian tropical rain forest. *Ecology* **92**, 1637–1647. (doi:10.1890/10-2231.1)
23. Beckman NG, Muller-Landau HC. 2007 Differential effects of hunting on pre dispersal seed predation and primary and secondary seed removal of two neotropical tree species. *Biotropica* **39**, 328–339. (doi:10.1111/j.1744-7429.2007.00273.x)
24. Galetti M, Donatti CI, Pires AS, Guimarães Jr PR, Jordano P. 2006 Seed survival and dispersal of an endemic Atlantic forest palm: the combined effects of defaunation and forest fragmentation. *Bot. J. Linn. Soc.* **151**, 141–149. (doi:10.1111/j.1095-8339.2006.00529.x)
25. Asquith NM, Terborgh J, Elizabeth Arnold A, Riveros M. 1999 The fruits the agouti ate: *Hymenaea courbaril* seed fate when its disperser is absent. *J. Trop. Ecol.* **15**, 229–235. (doi:10.1017/S0266467499000772)
26. Brocardo CR, Zipparo VB, de Lima RAF, Guevara R, Galetti M. 2013 No changes in seedling recruitment when terrestrial mammals are excluded in a partially defaunated Atlantic rainforest. *Biol. Conserv.* **163**, 107–114. (doi:10.1016/j.biocon.2013.04.024)
27. Asquith NM, Mejía-Chang M. 2005 Mammals, edge effects, and the loss of tropical forest diversity. *Ecology* **86**, 379–390. (doi:10.1890/03-0575)
28. DeMattia EA, Rathcke BJ, Curran LM, Reinaldo A, Vargas O. 2006 Effects of small rodent and large mammal exclusion on seedling recruitment in Costa Rica. *Biotropica* **38**, 196–202. (doi:10.1111/j.1744-7429.2006.00117.x)
29. Young HS, McCauley DJ, Helgen KM, Goheen JR, Otárola-Castillo E, Palmer TM, Pringle RM, Young TP, Dirzo R. 2013 Effects of mammalian herbivore declines on plant communities: observations and experiments in an African savanna. *J. Ecol.* **101**, 1030–1041. (doi:10.1111/1365-2745.12096)
30. Beck H, Snodgrass JW, Thebpanya P. 2013 Long-term enclosure of large terrestrial vertebrates: implications of defaunation for seedling demographics in the Amazon rainforest. *Biol. Conserv.* **163**, 115–121. (doi:10.1016/j.biocon.2013.03.012)
31. Medellín RA. 1994 Mammal diversity and conservation in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *Conserv. Biol.* **8**, 780–799. (doi:10.1046/j.1523-1739.1994.08030780.x)
32. Azuara D. 2005 Estimación de abundancia de mamíferos terrestres en un área de la Selva Lacandona, Chiapas. Master's thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico.
33. Falconi F. 2011 Densidad y abundancia relativa de aves y mamíferos en el sector sur de la Reserva de la Biosfera Montes Azules y comunidades adyacentes de la Selva Lacandona, Chiapas, México. Thesis presented to obtain Bachelor's degree in Biology, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Mexico.
34. Towns VS. 2013 Monitoreo poblacional de algunas especies de mamíferos de talla mayor en la selva alta perennifolia del estado de Chiapas, México. Master's thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico.
35. Paine CET, Beck H. 2007 Seed predation by neotropical rain forest mammals increases diversity in seedling recruitment. *Ecology* **88**, 3076–3087. (doi:10.1890/06-1835.1)
36. DeMattia EA, Curran LM, Rathcke BJ. 2004 Effects of small rodents and large mammals on neotropical seeds. *Ecology* **85**, 2161–2170. (doi:10.1890/03-0254)
37. Velho N, Datta A, Isvaran K. 2009 Effect of rodents on seed fate of five hornbill-dispersed tree species in a tropical forest in north-east India. *J. Trop. Ecol.* **25**, 507–514. (doi:10.1017/S0266467409990083)
38. Fleming TH. 1974 The population ecology of two species of Costa Rica heteromyid rodents. *Ecology* **55**, 493–510. (doi:10.2307/1935142)
39. Chapman CA, Onderdonk DA. 1998 Forests without primates: primate/plant codependency. *Am. J. Primatol.* **45**, 127–141. (doi:10.1002/(SICI)1098-2345(1998)45:1<127::AID-AJP9>3.0.CO;2-Y)
40. Holbrook KM, Loiselle BA. 2009 Dispersal in a Neotropical tree, *Virola flexuosa* (Myristicaceae): does hunting of large vertebrates limit seed removal? *Ecology* **90**, 1449–1455. (doi:10.1890/08-1332.1)
41. Gálvez D, Kranstauber B, Kays RW, Jansen PA. 2009 Scatter hoarding by the Central American agouti: a test of optimal cache spacing theory. *Anim. Behav.* **78**, 1327–1333. (doi:10.1016/j.anbehav.2009.08.015)
42. Adler GH, Kestell DW. 1998 Fates of neotropical tree seeds influenced by spiny rats (*Proechimys semispinosus*). *Biotropica* **30**, 677–681. (doi:10.1111/j.1744-7429.1998.tb00109.x)
43. Harrison RD, Tan S, Plotkin JB, Slik F, Detto M, Brenes T, Itoh A, Davies SJ. 2013 Consequences of defaunation for a tropical tree community. *Ecol. Lett.* **16**, 687–694. (doi:10.1111/ele.12102)



**ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL**



**Figure S1.** Geographic location of the study area within the State of Chiapas, southeast Mexico. MABR = Montes Azules Biosphere Reserve. Each black circle in the left-bottom image indicates the location of the experimental cluster of plots (triplets). Image taken from Google Earth.

### *Study site*

The Montes Azules Biosphere Reserve (MABR), Mexico (16°6'48" N, 90°56'27" W). Average temperature and annual precipitation in the MABR range between 24 °C and 26 °C and between 1500 and 3000 mm respectively (INE, 2000). Mammals species in the MABR include top predators such as cougar (*Puma concolor*) and jaguar (*Panthera onca*); large-bodied herbivores such as Baird's tapir (*Tapirus bairdii*), white tailed-deer (*Odocoileus virginianus*), Central American brocket deer (*Mazama temama*), collared peccary (*Pecari tajacu*) and white-lipped peccary (*Tayassu pecari*); and several small and medium-sized granivores/frugivores, such as agouti (*Dasyprocta punctata*), paca (*Cuniculus paca*), squirrels (*Sciurus* spp.), and rodents (e.g. *Heteromys desmarestianus*) (Medellin, 1994).

### **Text S1.** *Experimental design of enclosure mammalian treatments*

We established three treatments of mammalian exclusion in each triplet: Control (C) plots were delimited by PVC stakes jutting only 30 cm from the ground allowing free animal access. Partial enclosures (PE) plots were fenced with 1.2 m height chicken wire, supported by aluminium stakes. A 20-cm gap was left at the base of all around the fence walls to allow access to small-bodied mammals. Total enclosures (TE) plots were fenced with chicken wire plus 90-cm tall galvanized sheet buried 20 cm deep to prevent access of burrowing mammals. Granivorous birds were able to potentially access excluded plots but they were not seen foraging inside the plots or in the understorey in general. A pilot monitoring of experimental plots using Sherman traps showed that PE allowed the access of small rodents while TE plots were effective to limit their access (data not shown). Evidence of the activity of mammalian species in our study area across plot clusters indicated that seeds and seedlings/saplings in our control plots were exposed to the potential effects of consumption and trampling of these animals.

### **Text S2.** *Mammal presence in the study area*

To record the mammalian fauna present in our study area we set, at the onset of the experiment, 45 sand quadrats (50 x 30 cm each), separated by a distance of 10 m, along 3 trails that crossed the area in which most of the triplets were located. These quadrats were checked for tracks daily during a four-day period. Tracks recorded in the quadrats were identified using field guides and then erased to avoid double

counting. Additionally, in July 2013, we set one camera-trap (Bushnell 119445 or Stealth Cam STC-U838NXT) in each of 10 control plots. These cameras were active for four weeks. We completed the list of mammals active in our study area with data from independent camera-trapping surveys carried out in the vicinity of our study area during the 2001-2012 period (Azuara, 2005; Falconi, 2011; Garmendia et al. 2013; Towns, 2013).

### **Text S3.** *Full statistical analyses*

We applied one-way ANOVA using software R (R Core Team, 2014) to examine tree seedling density, species richness and Shannon diversity differences among treatments at the onset of the experiment.

To examine changes in raw species richness and diversity over time we applied a repeated measurements linear mixed effects model. Treatments and time (months after initial setting) were defined as fixed effects and in the random component we defined the repeated measurements nature of the analysis within each cluster and treatment combination. In addition we modelled the variance with a power function and we accounted for the correlation among the data with a general correlation function in order to meet model assumptions. To do this we used the R package nlme (Pinheiro et al., 2013).

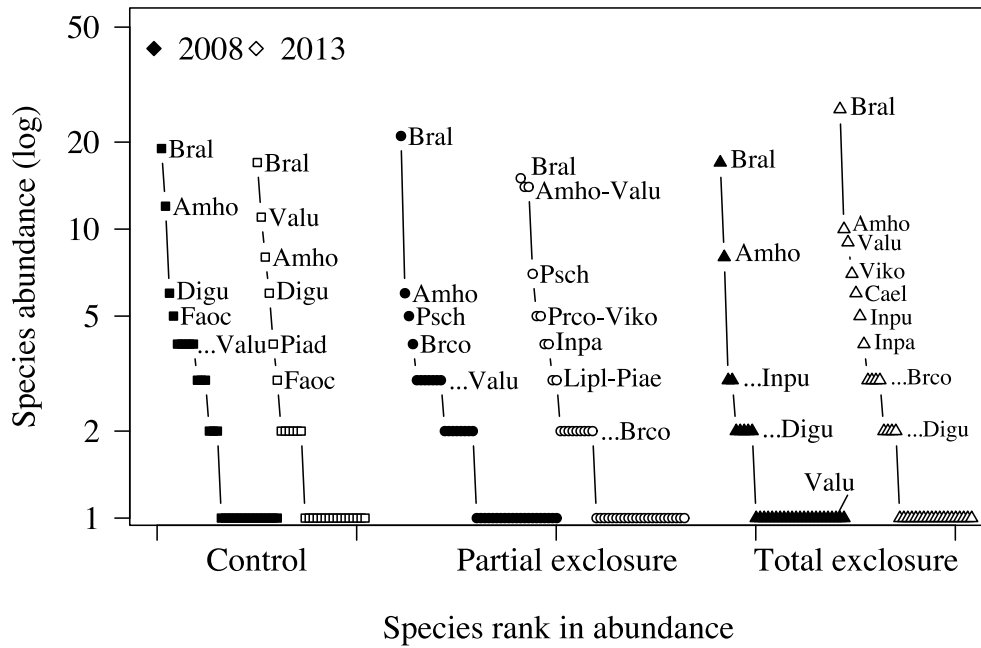
To analyse the effects of treatments on seedling survival and recruitment, we divided the corresponding data in three inter-census periods: 2008-2010 (35 months), 2010-2011 (11 months), and 2011-2013 (14 months). We compared seedling survival, recruitment and density by fitting a Jolly-Seber open population model, using the R package Rcapture (Baillargeon & Rivest, 2012), an approach successfully used in other studies on seedling dynamics to account for tags loss in repetitive censuses (Beck et al., 2013). In our case, estimated average tag loss was ca. 16%. For each tagged seedling we created a “capture” history and analysed their frequencies using log-linear models (Baillargeon & Rivest, 2007). To contrast survival, recruitment and density among treatments we applied *t* tests using the means and standard errors generated by the fitted models.

To assess the possible existence of spatial autocorrelation among experimental triplets we carried out a Mantel test using physical distances and plant survival rates in control plots. Plant survival rate to 2013 for the 2008 cohort was used. This analysis was performed using the R package ade4 (Dray & Dufour, 2007).

To analyse the impact of mammal exclusion on species richness and diversity (Shannon Index), we calculated sample-based (i.e., plots) rarefaction curves for years 2008 and 2013 using EstimateS ver. 9 (Colwell, 2013). To test for differences in diversity between the onset and the end of the experiment, we compared the degree of overlap between 95% confidence intervals for 2008 and 2013 curves within each treatment.

We analysed whether plant species with an initially high abundance experienced a significant increase resulting from mammalian exclusion. To test this hypothesis we conducted an analysis of covariance using the initial and final abundances of the plant species present at the onset of the experiment as explanatory and response variables, respectively, and treatment as a factor. For this analysis we pooled seedlings per species for each treatment. After establishing the existence of significant differences among treatments we compared the resulting slopes using contrasts based on the linear predictors of the model.

Moreover, we used a contingency analysis to examine if frequencies of rare and abundant species were independent among treatments, and across time using a Pearson's Chi-squared test and a Fisher's exact test, respectively. We used a modified Importance Value Index (IVI) to identify the rare and dominant species by treatment and census (density of individuals + ratio of occupied plots). Rare and abundant species were defined as species with an IVI < 1.3 and IVI > 2.9, respectively.



**Figure S2.** Rank-abundance curves for tree seedling species in each of the experimental mammal defaunation treatments (plots pooled) for 2008 and 2013 years. The dotted line indicates that more than one species occupy that level of abundance. Key to species names: Amho = *Ampelocera hottlei*, Bral = *Brosimum alicastrum*, Brco = *Brosimum costaricanum*, Cael = *Castilla elastica*, Digu = *Dialium guianense*, Faoc = *Faramea occidentalis*, Inga = *Inga pavoniana*, Inpu = *Inga punctata*, Lipl = *Licania platypus*, Piad = *Piper aduncum*, Piae = *Piper aequale*, Prco = *Protium copal*, Psch = *Psychotria chiapensis*, Valu = *Vatairea lundelli*, Viko = *Virola koschnyi*.

**Table S1.** Mammals recorded in the study area using different methods, before and during the period in which seedling censuses were conducted. Species names follow Wilson and Reeder (2005). Data in “Camera-traps” column indicate minimum and maximum values of capture frequency (picture records/100 camera-trapping days) based on five camera-trapping studies (superscript numbers and references given below).

Family	Species	Sampling method			
		Camera-traps	Tracks	Sightings	
Didelphidae	<i>Didelphis marsupialis</i> (Common opossum)	0.00 <sup>2,3</sup> 0.89 <sup>1</sup>	–		
	<i>Didelphis virginiana</i> (Virginia opossum)	0.00 <sup>2,3</sup> 0.49 <sup>1</sup>	–		
	<i>Metachirus nudicaudatus</i> (Brown four-eyed opossum)	0.00 <sup>2,3</sup> 0.49 <sup>1</sup>	–		
	<i>Philander opossum</i> (Gray four-eyed opossum)	0.00 <sup>2,3</sup> 0.32 <sup>1</sup>	–		
	Dasypodidae	<i>Dasyopus novemcinctus</i> (Nine-banded armadillo)	0.16 <sup>2</sup> 2.67 <sup>1</sup>	–	x <sup>4</sup> x <sup>4</sup>
		Myrmecophagidae	<i>Tamandua mexicana</i> (Northern Tamandua)	0.00 <sup>2</sup> 0.08 <sup>1</sup>	–
Cuniculidae	<i>Cuniculus paca</i> (Spotted paca)		1.38 <sup>2</sup> 8.05 <sup>5</sup>	–	x <sup>4</sup>
	Dasyproctidae	<i>Dasyprocta punctata</i> (Central American agouti)	0.00 <sup>1,2</sup> 1.24 <sup>5</sup>	–	
Sciuridae		<i>Sciurus</i> sp. (Squirrel)	0.00 <sup>3</sup> 0.53 <sup>1</sup>	–	
	Felidae	<i>Leopardus pardalis</i> (Ocelot)	0.08 <sup>2</sup> 1.33 <sup>1</sup>	–	x <sup>4,5</sup>
<i>Puma concolor</i> (Cougar)		0.00 <sup>2</sup> 1.61 <sup>3</sup>	–		
<i>Panthera onca</i> (Jaguar)		0.12 <sup>2</sup> 1.50 <sup>3</sup>	–		
<i>Leopardus weidii</i> (Margay)		0.00 <sup>1</sup> 0.24 <sup>2</sup>	–		

	<i>Puma yaguaroundi</i>	0.00 <sup>2,3</sup>	–		
	(Jaguarundi)	0.04 <sup>1</sup>			
Mustelidae	<i>Eira barbara</i>	0.00 <sup>2</sup>	–		
	(Tayra)	0.39 <sup>3</sup>			
Mephitidae	<i>Conepatus semistriatus</i>	0.00 <sup>2,3</sup>	–		
	(Striped hog-nosed skunk)	0.04 <sup>1</sup>			
Procyonidae	<i>Nasua narica</i>	0.12 <sup>2</sup>	–	x <sup>4</sup>	x <sup>4</sup>
	(White-nosed coati)	1.13 <sup>1</sup>			
	<i>Procyon lotor</i>	NR		x <sup>5</sup>	
	(Raccoon)				
Cervidae	<i>Mazama temama</i> *	0.57 <sup>2</sup>	–	x <sup>4</sup>	x <sup>4</sup>
	(Central American red brocket)	2.17 <sup>3</sup>			
	<i>Odocoileus virginianus</i>	0.00 <sup>1,3</sup>	–	x <sup>4</sup>	
	(White-tailed deer)	0.04 <sup>2</sup>			
Tayassuidae	<i>Pecari tajacu</i>	0.93 <sup>5</sup>	–	x <sup>4,5</sup>	x <sup>4,5</sup>
	(Collared peccary)	1.82 <sup>1</sup>			
	<i>Tayassu pecari</i>	0.00 <sup>2</sup>	–		
	(White lipped peccary)	1.42 <sup>1</sup>			
Tapiridae	<i>Tapirus bairdii</i>	0.44 <sup>2</sup>	–	x <sup>4,5</sup>	x <sup>5</sup>
	(Baird's tapir)	5.72 <sup>3</sup>			

<sup>1</sup>Azuara (2005); <sup>2</sup>Falconi (2011); <sup>3</sup>Towns (2013); <sup>4</sup>Garmendia et al. (2013); <sup>5</sup>This study.

\* Recorded by Azuara (2005) and Garmendia et al. (2013) as *M. americana*. NR = not recorded.



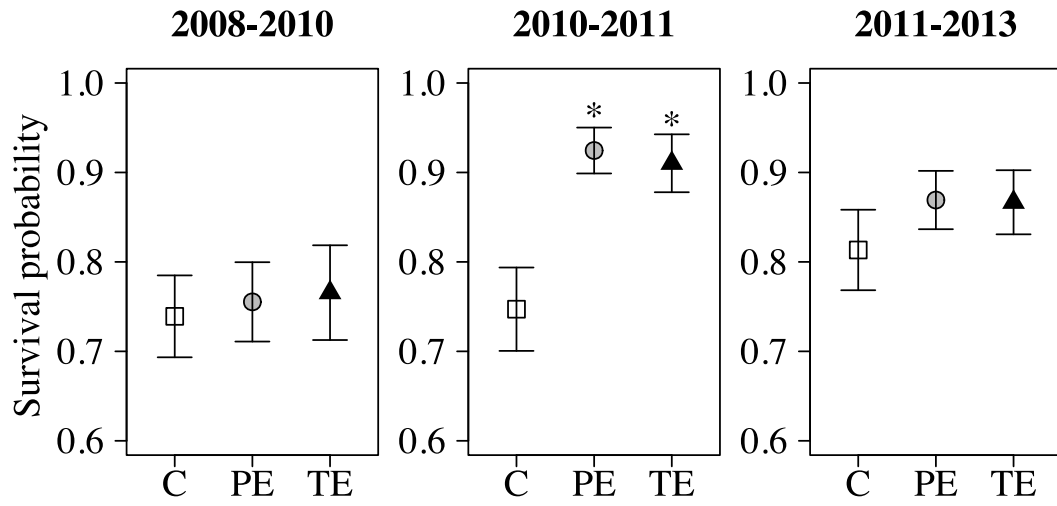
Bushnell

01-07-2010 03:20:49

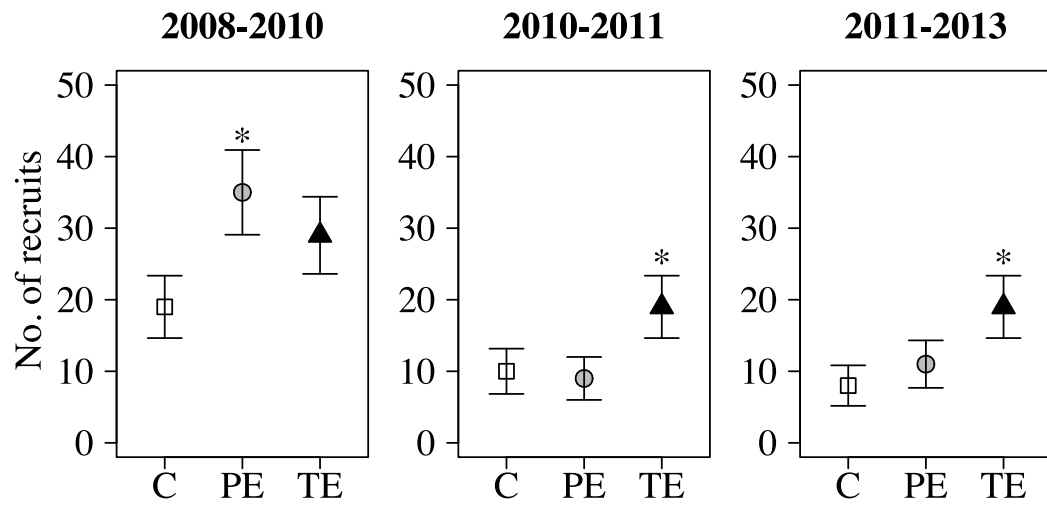
**Figure S3.** Mammals consuming fruits of *Pouteria sapota* (top) and *Brosimum alicastrum* (bottom) within the study area in the Montes Azules Biosphere Reserve. Baird's tapir (*Tapirus bairdii*) (top) and paca (*Cuniculus paca*) (bottom).

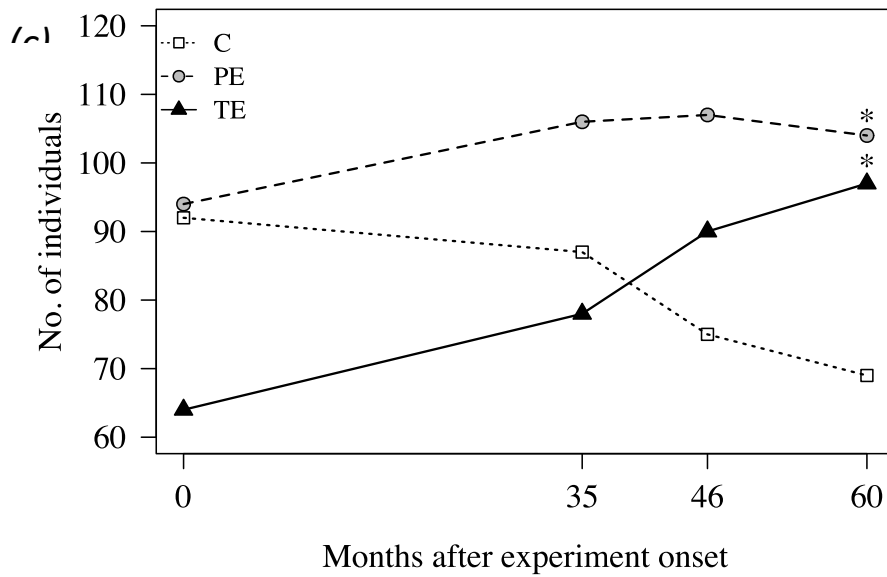


(a)

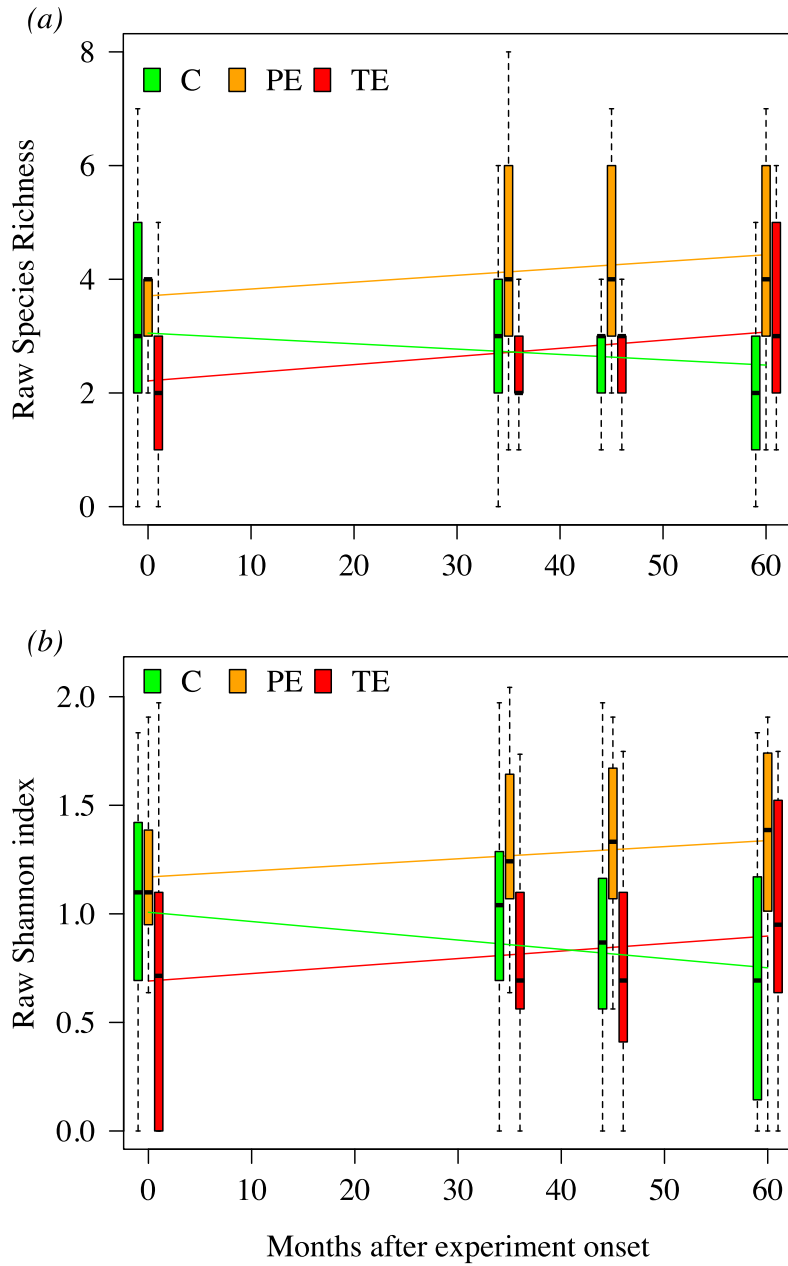


(b)

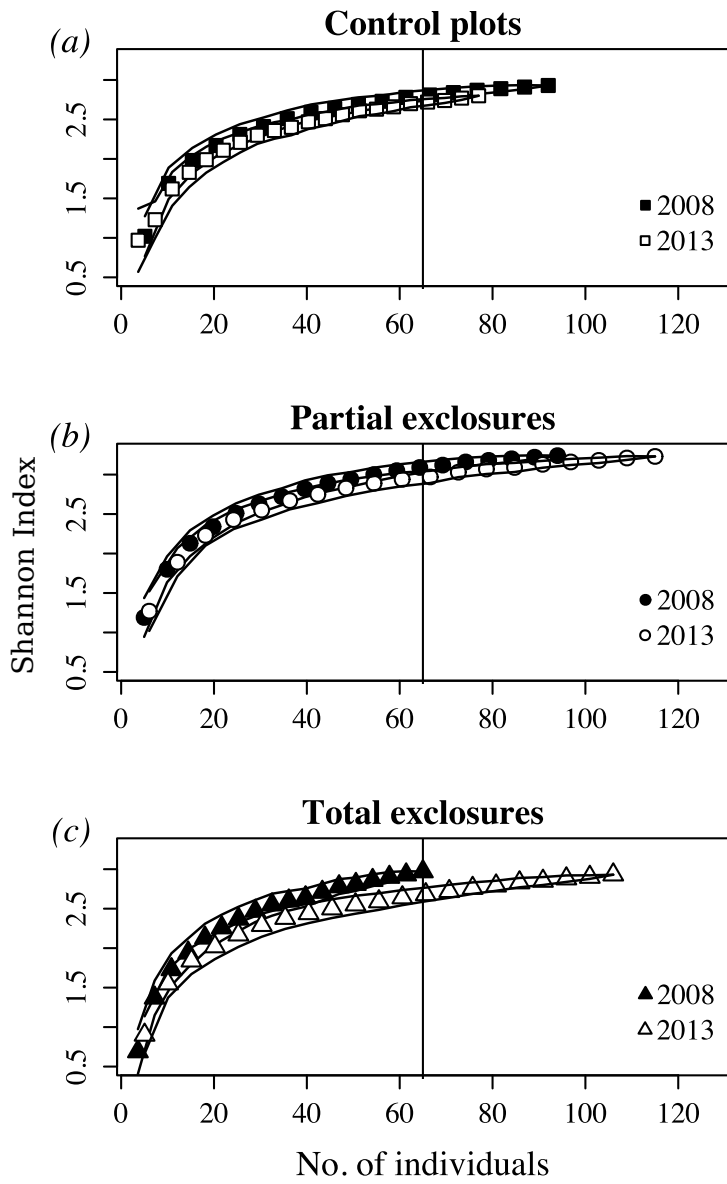




**Figure S4.** Temporal changes in (a) survival probability, (b) tree seedling/sapling recruitment and (c) plant density among treatments for the three periods evaluated excluding the event of massive production of *Vatairea lundellii* seedlings in 2011. Values come from Jolly-Seber open population models  $\pm$  1 SE. C = control plot, PE = partial exclosure and TE = total exclosure. (\*) indicates significant differences compared with control ( $p < 0.05$ ).



**Figure S5.** Changes in (a) species richness and (b) Shannon diversity among treatments over time. Box plots illustrate variation within each treatment and continuous lines represent the predictors of the linear mixed-effects models. C = control plot, PE = partial exposure and TE = total exposure.



**Figure S6.** Rarefaction curves showing changes in seedling community Shannon Index observed between 2008 and 2013 in each of the experimental treatments. Continuous lines represent 95% confidence intervals. Vertical lines show the minimum number of individuals found in any treatment.

**Table S2.** Initial (2008) and final (2013) abundances of 11 plant species present in all treatments at the onset of the experiment of mammalian exclusion conducted in Montes Azules Biosphere Reserve. These species were included in the analysis of covariance and graphed in the figure 4 of the main text.

Species	Control plots		Partial exclosures		Total exclosures	
	2008	2013	2008	2013	2008	2013
<i>Brosimum alicastrum</i>	19	17	21	15	17	26
<i>Ampelocera hottlei</i>	12	8	6	14	8	10
<i>Dialium guianense</i>	6	6	1	0	2	2
<i>Faramea occidentalis</i>	5	3	2	1	1	1
<i>Inga pavoniana</i>	3	1	3	4	2	4
<i>Psychotria papantlensis</i>	1	2	5	7	2	2
<i>Vatairea lundellii</i>	4	11	3	14	1	9
<i>Inga punctata</i>	1	1	3	0	3	5
<i>Guarea glabra</i>	2	2	2	2	2	2
<i>Pouteria glomerata</i>	4	1	1	1	1	1
<i>Mollinedia pallida</i>	1	1	1	1	1	0

## References

- Azuara, D. (2005). *Estimación de abundancia de mamíferos terrestres en un área de la Selva Lacandona, Chiapas*. Master's thesis, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Baillargeon, S., & Rivest, L. P. (2007). Rcapture: Loglinear models for capture-recapture in R. *Journal of Statistical Software*, 19(5), 1–31.
- Baillargeon, S., & Rivest, L. P. (2012). Rcapture: Loglinear models for capture-recapture experiments. R package version 1.3-1. Retrieved from <http://cran.r-project.org/package=Rcapture>
- Beck, H., Snodgrass, J. W., & Thebpanya, P. (2013). Long-term exclosure of large terrestrial vertebrates: Implications of defaunation for seedling demographics in the Amazon rainforest. *Biological Conservation*, 163, 115–121. doi:10.1016/j.biocon.2013.03.012
- Colwell, R. K. (2013). EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 9.

- R Core Team. (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Retrieved from <http://www.r-project.org/>
- Dray, S., & Dufour, A. B. (2007). The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, 22(4), 1–20.
- Falconi, F. (2011). *Densidad y abundancia relativa de aves y mamíferos en el sector sur de la Reserva de la Biosfera Montes Azules y comunidades adyacentes de la Selva Lacandona, Chiapas, México*. Thesis presented to obtain Bachelor's degree in Biology, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
- Garmendia, A., Arroyo-Rodriguez, V., Estrada, A., Naranjo, E., & Stoner, K. E. (2013). Landscape and patch attributes impacting medium- and large-sized terrestrial mammals in a fragmented rain forest. *Journal of Tropical Ecology*, 39, 331–344. doi: 10.1017/S0266467413000370
- INE. (2000). *Programa de manejo de la Reserva de la Biósfera Montes Azules*. México.
- Medellin, R. A. (1994). Mammal diversity and conservation in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *Conservation Biology*, 8(3), 780–799. doi:10.1046/j.1523-1739.1994.08030780.x
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., & R Development Core Team. (2013). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-111.
- Towns, V. S. (2013). *Monitoreo poblacional de algunas especies de mamíferos de talla mayor en la selva alta perennifolia del estado de Chiapas, México*. Master's thesis, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Wilson, D. E., & Reeder, D. M. (2005). *Mammal species of the world, 3rd edn*. Baltimore, MD: John Hopkins University Press.

## **CAPÍTULO IV**

# **Patrones de remoción de semillas: el papel de los atributos químicos y el tamaño de los mamíferos granívoros**

Angela A. Camargo-Sanabria

## Resumen

Las semillas en el suelo de la selva son un recurso valioso para diversas especies de mamíferos tropicales. A su vez, los mamíferos impactan positiva o negativamente las poblaciones de muchas especies de plantas a través de la dispersión o depredación de semillas. Los mamíferos granívoros seleccionan las semillas con base en el tamaño, contenido nutrimental, concentración de metabolitos secundarios y presencia de defensas físicas. Existen pocos estudios que evalúen simultáneamente el efecto relativo de mamíferos pequeños y grandes sobre los patrones de remoción de semillas y la interacción con los atributos nutrimentales y de defensa de las mismas. En este trabajo se cuantificaron los patrones de remoción de semillas de ocho especies de árboles tropicales y se relacionaron con sus atributos químicos. Estas semillas tuvieron un tamaño similar pero contrastaron en el contenido de nutrientes y de metabolitos secundarios. Se encontró que la remoción de semillas se asoció principalmente con la concentración de dos metabolitos secundarios: inhibidores de tripsina y saponinas y secundariamente, con el contenido de grasas y carbohidratos no estructurales. La presencia de altos contenidos de grasas y proteínas en las semillas con mayor remoción pudo ser el factor responsable de atenuar o compensar los efectos negativos de las defensas químicas. Este estudio demostró que aún dentro de un grupo de semillas de tamaño similar existe variación en el resultado de la interacción semilla-granívoro debido a la influencia de atributos químicos y al tamaño del potencial consumidor.

**Palabras clave:** reservas de las semillas, depredación de semillas, mamíferos tropicales, metabolitos secundarios, Selva Lacandona.



## Introducción

Las semillas que se depositan en el piso de la selva son un recurso esencial para muchos granívoros terrestres (Curran & Leighton, 2000; Leigh, 1999). Se estima que los mamíferos tropicales pueden remover hasta el 90% de la lluvia de semillas producida por algunas especies de árboles en la selva (Hulme, 2002). De esta forma, los mamíferos pueden: 1) ejercer un impacto negativo sobre el tamaño de las poblaciones de plantas al actuar como depredadores (Crawley, 2000) o 2) afectar la distribución espacial de las plántulas o incluso estadios más avanzados a través de la dispersión secundaria (Nathan & Muller-Landau, 2000).

Actualmente, es reconocido que la defaunación, el proceso de disminución y pérdida de poblaciones de vertebrados (Dirzo et al., 2014), altera indirectamente los patrones de remoción de semillas al afectar las especies de mamíferos granívoros terrestres, especialmente aquellas de mayor tamaño corporal. Las predicciones de los efectos de la defaunación sobre los patrones de remoción de semillas se han hecho considerando casi exclusivamente el tamaño de la semilla. La hipótesis de la depredación diferencial predice que en ausencia de los mamíferos grandes, la presión de depredación aumentará sobre las especies de semilla pequeña debido a la presencia de roedores granívoros, que son menos afectados e incluso beneficiados por la defaunación (Mendoza & Dirzo, 2007). Sin embargo, la decisión de un granívoro sobre qué hacer con una semilla (consumirla *in situ*, removerla o almacenarla) y por tanto, el destino final está influenciada por otros atributos de la semilla. Por ejemplo, Xiao et al. (2006) encontraron que la proporción de semillas removidas por roedores se relacionó positivamente con el tamaño de la semilla pero negativamente con su valor calórico y su concentración de taninos. Por otra parte, Zhang & Zhang (2008) encontraron que los roedores removieron más rápido semillas con endocarpos delgados y que la variación interespecífica estuvo relacionada con el tamaño corporal del roedor. Estudios enfocados en mamíferos medianos y grandes también muestran que hay respuestas dependientes de los atributos de las semillas. *Mucuna holtonii*, una semilla altamente tóxica pero con altos contenidos de proteína, es consumida *in situ* por el pecarí de collar, mientras que tiende a ser dispersada por el aguti quien no puede consumirla porque es afectado negativamente por las toxinas (Kuprewicz & García-Robledo, 2010). Un patrón similar fue observado en la leguminosa *Ormosia arborea*; la presencia de alcaloides en su semillas desalentó el consumo por el roedor *Dasyprocta leporina* más no su capacidad para almacenarlas, favoreciendo su dispersión (Guimarães et al., 2003).

Los estudios en el Neotrópico en el contexto de la defaunación han evaluado semillas de tamaño contrastante (Dirzo et al., 2007; Mendoza & Dirzo, 2007). En contraste, en el presente estudio evaluó semillas de tamaño similar pero que varían en sus reservas y en sus defensas químicas. Estos atributos de las semillas no sólo responden a la presión selectiva de los animales granívoros sino también a la de otros factores bióticos así como múltiples factores abióticos (Fenner & Thompson, 2005). Por ejemplo, el tamaño y las reservas de la semilla (nitrógeno, lípidos y carbohidratos no estructurales) determinan la cantidad total de recursos disponibles para el crecimiento y desarrollo de las plántulas (Fenner, 1983; Ichie et al., 2001). De igual forma, estos dos atributos influyen en la atracción a depredadores (Mendoza & Dirzo, 2007), y en la tolerancia y capacidad de las plántulas para recuperarse de la herbivoría o el daño físico (Mendoza & Dirzo, 2009; Moles & Westoby, 2004). Además de una cantidad finita de reservas, la semilla posee metabolitos secundarios y estructuras (como testas gruesas y duras) que le permiten defenderse de la depredación pre- y post-dispersión, así como del ataque por patógenos (Fenner & Thompson, 2005).

Los mamíferos granívoros, a su vez, responden diferencialmente a los atributos de las semillas de acuerdo a su tamaño corporal, comportamiento de forrajeo y fisiología digestiva (Hautier et al., 2010). Se sabe, por ejemplo, que los mamíferos tratan de maximizar la ingesta de nutrimentos y energía rápidamente metabolizable y de evitar las defensas físicas o compuestos secundarios que reducen la digestibilidad (Tahvanainen et al., 1991). Pero, tienden a haber diferencias dependiendo del tamaño corporal; mientras los mamíferos grandes (> 5 kg) tienen un sistema digestivo y de detoxificación eficiente que les permite consumir comida rica en fibra o en metabolitos secundarios perjudiciales, los mamíferos pequeños (< 500 g) están fuertemente limitados por la cantidad de metabolitos secundarios que pueden procesar (Tahvanainen et al., 1991). En consecuencia, los mamíferos pequeños como los roedores prefieren alimentos con alto contenido energético o nutrimental y poca fibra y seleccionan sobre la base de pequeñas diferencias en la concentración de metabolitos secundarios (Blate et al., 1998; Martínez-Gallardo & Sánchez-Cordero, 1993; Wang & Chen, 2012). Por su parte, los mamíferos grandes, en particular los rumiantes, parecen seleccionar con base en la disponibilidad del recurso alimenticio más que en sus atributos intrínsecos; esto gracias a características morfo-funcionales del animal como el gran volumen del rumen, el mutualismo con microbios y el prolongado tiempo de retención de la comida en el tracto digestivo (Tahvanainen et al., 1991). Sin embargo, la respuesta del mamífero a los compuestos defensivos de las plantas es mucho más compleja y además del tamaño del animal

dependerá de lo que el animal ha estado consumiendo o consumirá, de su edad, sexo y estado reproductivo (Freeland & Janzen, 1974).

Pocos estudios (ver Blande et al., 1998) han evaluado simultáneamente el efecto relativo de mamíferos pequeños y grandes y su interacción con los atributos nutrimentales y de defensa de las semillas. En el presente trabajo utilizo un diseño de exclusiones para separar el efecto de los mamíferos medianos-grandes y pequeños sobre la remoción de semillas de ocho especies de árboles tropicales y evaluo los atributos nutrimentales (grasa, proteína, carbohidratos no estructurales o CNE, minerales y agua) y defensivos (fibra, inhibidores de tripsina, fenoles, saponinas y alcaloides) de las semillas. Los tratamientos de exclusión permitieron: i) el acceso de toda la fauna terrestre (testigo, T), ii) el paso de los mamíferos pequeños pero limitaron el ingreso de los medianos-grandes (exclusión parcial, EP) y iii) impidieron el paso de todos los mamíferos terrestres (exclusión total, ET). Específicamente se buscó responder: (1) ¿qué atributos ordenan a las especies a lo largo del gradiente de concentración de tipos de compuestos?, (2) ¿los atributos evaluados se relacionan con la proporción de semillas removidas?, y (3) ¿hay diferencias en la proporción de semillas removidas por especie entre tratamientos de exclusión de mamíferos? El estudio se llevó a cabo en la Reserva de la Biósfera Montes Azules, un área de selva húmeda que posee una comunidad bien conservada de mamíferos depredadores de semillas, lo cual la convierte en un sistema ideal para analizar el efecto relativo de los mamíferos grandes-medianos y pequeños sobre los patrones de remoción de las semillas.

## **Métodos**

### *Sitio de estudio*

Este estudio se llevó a cabo en el extremo sur de la Reserva de la Biósfera Montes Azules (RBMA) en el estado de Chiapas (lat. 19°05'-20°07' N, long. 90°45'01"-91°30'24" O), en la vecindad de la Estación Biológica Chajul. El área de estudio está incluida en la Selva Lacandona, la porción de bosque húmedo tropical más grande de México. En la Selva Lacandona la temperatura media anual varía entre 24 y 26°C, y la precipitación anual promedio es 2200 mm (Estación Meteorológica Guacamayas), presentando generalmente un máximo de precipitación entre junio y septiembre y un mínimo entre marzo y abril (INE, 2000).

La fauna de mamíferos de la RBMA incluye 112 especies de las cuales 36 tienen hábitos terrestres, semiarbóreos o escansoriales (animales adaptados a escalar; Medellín, 1994). De estas 36 especies, el 78% (28 spp.) pesan más de 1 kg mientras que ocho pesan menos de 100 g. Asimismo, el 75% (27 spp.) incluye plantas en su dieta a través del consumo de follaje, semillas y/o frutos. En el área de la estación Chajul, estudios de foto-trampeo realizados en la última década confirman la presencia de 20 de las 23 especies de mamíferos medianos y grandes, terrestres y escansoriales reportadas por Medellín (1994) (Azuara, 2005; Falconi, 2011; Garmendia et al., 2013; Towns, 2013; Camargo-Sanabria & Mendoza, en preparación). En cuanto a la fauna de roedores pequeños (< 500 g) se sabe que *Heteromys desmarestianus* (46 a 87 g) es el roedor más abundante en el área de la estación Chajul, seguido por *Sigmodon* sp. (110 g) y *Oryzomys* sp. (33 a 53 g) (Mendoza, 2005; Villanueva, 2001). Considerando las categorías de dieta utilizadas por Medellín (1994) hay un grupo de 16 especies de mamíferos que potencialmente removerán o depredarán las semillas en los experimentos de remoción (Tabla 1).

**Tabla 1.** Especies de mamíferos pequeños, medianos y grandes que potencialmente pueden remover las semillas de ocho especies de árboles tropicales usadas en este estudio. Categorías de tamaño, dieta y hábito fueron tomados de Medellín (1994); P = pequeño (< 500 g), M = medianos (> 500 g a < 10 kg), GR = grandes (> 10 kg); G = Granívoro, F/H = Frugívoro/herbívoro, F/O = Frugívoro/Omnívoro, H/R = Herbívoro/ramoneador; T = terrestre, Sc = escansorial.

Especie	Tamaño	Dieta	Hábito
<i>Heteromys desmarestianus</i>	P	G	T
<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	P	G	T
<i>Oryzomys alfaroi</i>	P	G	T
<i>Oryzomys melanotis</i>	P	G	T
<i>Oryzomys palustris</i>	P	G	T
<i>Ototylomys phyllotis</i>	P	G	Sc
<i>Peromyscus mexicanus</i>	P	G	T
<i>Cuniculus paca</i>	M	F/H	T
<i>Dasyprocta punctata</i>	M	F/H	T
<i>Didelphis marsupialis</i>	M	F/O	Sc
<i>Didelphis virginiana</i>	M	F/O	Sc
<i>Nasua nasua</i>	M	F/O	Sc
<i>Mazama americana</i>	GR	H/R	T
<i>Pecari tajacu</i>	GR	F/H	T
<i>Tapirus bairdii</i>	GR	F/H	T
<i>Tayassu pecari</i>	GR	F/H	T

### *Especies focales*

Para seleccionar a las especies de árboles con las cuales trabajaría en este experimento, usé los datos de supervivencia y reclutamiento de plántulas que se colectaron en dos tratamientos de exclusión experimental de mamíferos terrestres (véanse detalles en Camargo-Sanabria et al., 2015). Seleccioné aquellas especies de árboles cuya densidad de plántulas aumentó en respuesta a los tratamientos de exclusión porque esto indica que éstas especies escaparon a la regulación ejercida por los mamíferos en la fase de establecimiento o reclutamiento. Adicionalmente se tuvo en cuenta: (1) que las semillas de las especies focales fueran removidas por mamíferos; (2) que los árboles reproductivos fueran lo suficientemente abundantes como para alcanzar un tamaño de muestra mínimo (ca. 200 semillas por especie); y (3) que las semillas tuvieran un tamaño mínimo para ser marcadas (ca. 10 mm). Las especies seleccionadas fueron *Brosimum alicastrum* (Moraceae), *B. lactescens* (Moraceae), *Pseudolmedia oxyphyllaria* (Moraceae), *Dialium guianense* (Fabaceae), *Inga pavoniana* (Fabaceae), y *Virola koschnyi* (Myristicaceae), usadas durante la temporada de fructificación de julio-agosto de 2013, y *Ampelocera hottlei* (Ulmaceae) y *Castilla elastica* (Moraceae), usadas durante la temporada de fructificación de mayo-junio de 2014.

### *Recopilación de información sobre atributos de las semillas*

La información sobre el tamaño de las semillas, humedad, contenido bromatológico (proteína cruda, grasa, fibra, carbohidratos no estructurales y minerales) y concentración de metabolitos secundarios (alcaloides, saponinas, inhibidores de tripsina y fenoles) se obtuvo directamente en este estudio con semillas colectadas en los senderos de la Estación Biológica Chajul y otros sectores de la RBMA. Durante los meses de julio-agosto de 2013 y mayo-junio de 2014 se colectaron frutos de las especies focales. Los frutos se colectaron del suelo debajo de los árboles parentales y se mantuvieron en bolsas de plástico herméticas hasta llegar a la base de trabajo. Se removió la parte carnosa de los frutos y las semillas se mantuvieron en refrigeración hasta su traslado al ultracongelador de los laboratorios institucionales de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) en San Cristóbal de las Casas. Todas las semillas con daños visibles fueron desechadas. Para los análisis de contenido nutrimental y metabolitos secundarios se utilizaron entre 150 y 500 semillas por especie.

Como se ha indicado en otros estudios conducidos en bosques tropicales, la longitud del diámetro mayor de la semilla y su masa están fuertemente correlacionados (Dirzo et al., 2007); por tanto, en este trabajo se utilizó la longitud de

la semilla como medida de su tamaño. Este diámetro se midió con un vernier en 20 semillas por especie.

El análisis químico proximal (AQP) fue realizado en el Laboratorio de Bromatología del ECOSUR siguiendo normas mexicanas, publicaciones y protocolos internos (Apéndice 1).

El análisis de metabolitos secundarios se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología Química del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES-UNAM) mediante espectrofotometría (UV-Vis Spectrophotometer Modelo 752). El protocolo de análisis constó de cinco pasos: secado, molido, desengrasado, extracción y determinación cuantitativa del metabolito (Apéndice 2).

#### *Experimentos de remoción de semillas*

Entre 160 y 400 semillas por especie fueron utilizadas para hacer los experimentos de remoción en sitios establecidos en la Estación Biológica Chajul (Camargo-Sanabria et al., 2015). Estos sitios estuvieron distanciados un mínimo de 60 m y un máximo de 820 m (promedio = 300 m). En cada uno de los sitios se establecieron tres parcelas experimentales de 6 x 3 m con dos tratamientos de exclusión de mamíferos y una parcela testigo: i) la parcela de exclusión parcial (EP) estuvo rodeada con malla de gallinero (1 m de altura) abierta en la base para excluir mamíferos medianos y grandes pero permitir el acceso de pequeños roedores; ii) la parcela de exclusión total (ET) estuvo rodeada de lámina metálica y malla de gallinero (1 m de altura) para evitar el acceso de todos los mamíferos terrestres; y iii) la parcela testigo (T) estuvo marcada sólo en las esquinas con estacas. Un estudio prospectivo, en el que se usaron trampas Sherman, mostró que la EP permitió el acceso de roedores mientras que la ET fue efectiva en limitar su acceso (datos no mostrados). Todas las exclusiones estuvieron abiertas en la parte superior, de tal forma que estuvieron expuestas a la lluvia de semillas y al efecto de vertebrados arborícolas de forma comparable a la parcela testigo.

Para preparar las semillas para el experimento se quitó la parte carnosa del fruto de tal forma que sólo la semilla estuviera presente y aquellas que mostraran algún daño fueron descartadas. Las semillas fueron mantenidas en refrigeración (12 °C) hasta el día en que se estableció el experimento, generalmente al día siguiente de su recolección o máximo dos días después.

Para determinar con mayor precisión el destino de las semillas, se procedió a marcar un subgrupo por especie. Para esto, se les pasó un hilo nylon de 50 cm de

longitud de grosor variable (dependiendo del tamaño de la semilla) a través de un pequeño orificio hecho con una aguja de coser delgada. Para facilitar la localización de la semilla en campo, al otro extremo del hilo nylon se amarró una cinta *flagging* de 5 cm.

Por cada especie se colocaron entre 10 y 20 semillas (5-10 marcadas y 5-10 sin marcar) por tratamiento (Tabla 2) en al menos seis sitios (réplicas). Sólo en el caso de un sitio para *D. guianense* las semillas disponibles sólo alcanzaron para repartirse entre dos tratamientos: exclusión parcial (EP) y parcela testigo (T). En cada sitio se establecieron semillas de máximo tres especies simultáneamente. Los experimentos se revisaron diariamente durante los primeros días y después de manera más espaciada hasta que 90% de las semillas de la parcela testigo fueron removidas (3 a 38 días).

**Tabla 2.** Número de semillas y réplicas utilizadas por especie para los experimentos de remoción llevados a cabo en dos temporadas de fructificación, julio – agosto 2013 y mayo – junio 2014. T = parcela testigo, EP = exclusión parcial, ET = exclusión total.

Especie	Semillas no marcadas/marcadas			Réplicas (sitios)	Días de seguimiento
	T	EP	ET		
<i>Ampelocera hottlei</i>	60/60	60/60	60/60	6	26
<i>Brosimum alicastrum</i>	63/58	63/59	63/59	8	20
<i>B. lactescens</i>	60/30	60/30	60/30	6	16
<i>Castilla elastica</i>	60/60	60/60	60/60	6	22
<i>Dialium guianense</i>	69/70	70/70	60/61	7	36
<i>Inga pavoniana</i>	55/55	56/55	55/55	6	7
<i>Pseudolmedia oxyphyllaria</i>	28/27	28/28	25/26	6	38
<i>Virola koschnyi</i>	54/54	54/54	54/55	7	38

En cada revisión se registró la condición de las semillas como: 1) removida, si no fue encontrada; 2) consumida parcial o totalmente en el sitio; 3) infestada, si fue atacada por hongos o insectos o 4) germinada. Las semillas infestadas se identificaron por la presencia de micelio o pequeños agujeros provocados por insectos. En el caso de las semillas marcadas que fueron removidas se clasificaron como dispersadas si fueron encontradas intactas en el suelo en un punto diferente al inicial o desaparecida si no fueron encontradas después de una búsqueda exhaustiva alrededor de la

parcela. Sólo las semillas que no tuvieron ninguna de estas condiciones fueron dejadas en el sitio para seguir monitoreándolas.

Para confirmar la actividad de los mamíferos medianos y grandes en los sitios experimentales, se colocó una cámara-trampa en la parcela testigo de cada sitio. Esta cámara estuvo activa durante todos los días del experimento.

#### *Análisis de datos*

Para determinar el nivel de asociación entre los atributos medidos en las semillas (tamaño, nutrimentos y metabolitos secundarios), se calculó el coeficiente de correlación de Pearson. En este análisis no se incluyó *Pseudolmedia oxyphyllaria* pues no tuvo datos de metabolitos secundarios.

Para ordenar a las especies de semillas de acuerdo a sus atributos químicos, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) usando las ocho especies de semillas y 10 atributos relacionados con su contenido nutrimental (grasas, proteínas, minerales, CNE), defensa química (fibra, inhibidores de tripsina, saponinas, alcaloides y fenoles) y humedad. El PCA se hizo con la función *rda* del paquete de R, Vegan (Oksanen et al., 2013).

Para evaluar la relación entre los atributos multivariados (ejes 1 y 2 del PCA) y la proporción de semillas removidas, se realizó un análisis de regresión lineal. Se revisó si los residuales del modelo se distribuían normalmente graficando los residuales del modelo contra la variable independiente (*scores*). Si los puntos en la gráfica se distribuían aleatoriamente alrededor del eje horizontal, el modelo lineal se consideró apropiado. Este análisis y el que se explica a continuación se hicieron sólo con las semillas no marcadas pues en algunas especies se observó un efecto de la marca sobre la probabilidad de germinación e infestación.

Se analizó el efecto del tratamiento de exclusión de mamíferos sobre la proporción final de semillas removidas para cada especie, con un modelo lineal generalizado y una distribución del error tipo binomial. La sobredispersión fue corregida usando *family* = quasibinomial. Todos los análisis se hicieron en el programa R (R Core Team, 2015).



## Resultados

### Caracterización de las semillas

El tamaño de las semillas de las especies fue en promedio 13.27 mm ( $\pm 1.13$  EE) y varió entre 9.5 mm (*Dialium guianense*) y 17.7 mm (*Pseudolmedia oxyphyllaria*). El análisis bromatológico mostró que el contenido de grasas fue el más variable, con valores de 0.95% a 57.14%. Los restantes atributos variaron entre dos y seis veces: proteína, de 7.79% a 18.95%; agua, de 24.01% a 58.63%; minerales, de 2.19% a 7.36%; fibra, de 4.08% a 26.68%; y CNE, de 16.64% a 83.08%. Dentro de los metabolitos secundarios (sin contar a *P. oxyphyllaria*), la concentración de alcaloides fue la menos variable, oscilando de 0.21 mg/g a 0.71 mg/g. La concentración de los restantes metabolitos varió entre 20 y 60 veces: inhibidores de tripsina, de 4.25 mg/g a 157.81 mg/g; saponinas, de 0.01 mg/g a 0.65 mg/g; y fenoles, de 0.10 mg/g a 1.92 mg/g (Apéndice 3).

El tamaño de la semilla estuvo correlacionado positivamente con el contenido de agua ( $r = 0.75$ ) y éste estuvo correlacionado negativamente con la concentración de saponinas ( $r = -0.76$ ). El contenido de CNE estuvo correlacionado negativamente con el contenido de fibra ( $r = -0.81$ ) y de grasas ( $r = -0.91$ ). No se presentaron correlaciones entre el contenido de proteínas, minerales, inhibidores de tripsinas y alcaloides, y entre éstos y los demás tipos de compuestos (Tabla 3).

**Tabla 3.** Correlaciones de Pearson entre los atributos medidos de las semillas de siete especies de árboles colectadas en la Reserva de la Biósfera Montes Azules. Las correlaciones significativas ( $p < 0.05$ ) son indicadas en negrita.

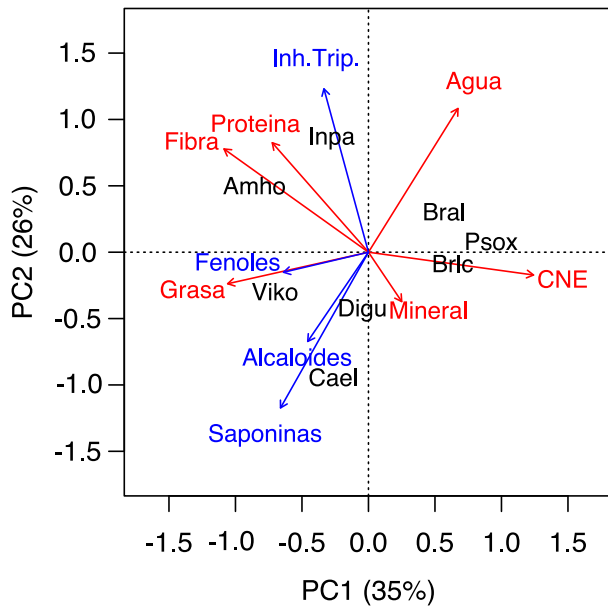
	Grasa	Prot.	Agua	Miner.	Fibra	CNE	Inh. Trip.	Sapon.	Alcal.	Fenol.
Tam.	0.38	0.14	<b>0.75</b>	-0.29	0.35	-0.41	0.61	-0.46	0.13	-0.27
Grasa	-	-0.08	-0.22	-0.47	0.53	<b>-0.91</b>	-0.22	0.34	0.28	-0.01
Prot.		-	0.06	0.21	0.63	-0.32	0.59	-0.21	-0.64	0.45
Agua			-	-0.35	0.07	0.16	0.73	<b>-0.76</b>	0.01	-0.56
Miner.				-	-0.42	0.39	-0.06	0.11	-0.28	0.73
Fibra					-	<b>-0.81</b>	0.50	-0.09	-0.30	-0.19
CNE						-	-0.08	-0.21	-0.01	-0.18
Inh. Trip.							-	-0.59	-0.28	-0.02
Sapon.								-	0.58	0.13
Alcal.									-	-0.56

El análisis de componentes principales mostró que 61% de la variación en los atributos de las semillas estuvo contenida en los dos primeros ejes de ordenación. En el eje 1 la mayor contribución estuvo dada por los contenidos de grasa (*score* = -0.74), fibra (*score* = -0.75) y CNE (0.86) mientras que la concentración de inhibidores de tripsina (*score* = 0.74) y de saponinas (*score* = -0.70) fueron las variables que más contribuyeron al eje 2 (Tabla 4).

**Tabla 4.** Contribución de las variables contenido de humedad, nutrimentos y defensas químicas, medidas en semillas de ocho árboles tropicales, a los primeros tres ejes de ordenación del PCA.

Variable	PC1	PC2	PC3
Grasa	-0.735	-0.143	0.393
Proteína	-0.502	0.495	-0.466
Agua	0.467	0.650	0.350
Mineral	0.174	-0.223	-0.811
Fibra	-0.754	0.467	0.055
CNE	0.862	-0.103	-0.184
Inh. de tripsina	-0.233	0.739	-0.101
Saponinas	-0.459	-0.705	-0.002
Alcaloides	-0.317	-0.404	-0.400
Fenoles	-0.444	-0.091	-0.754

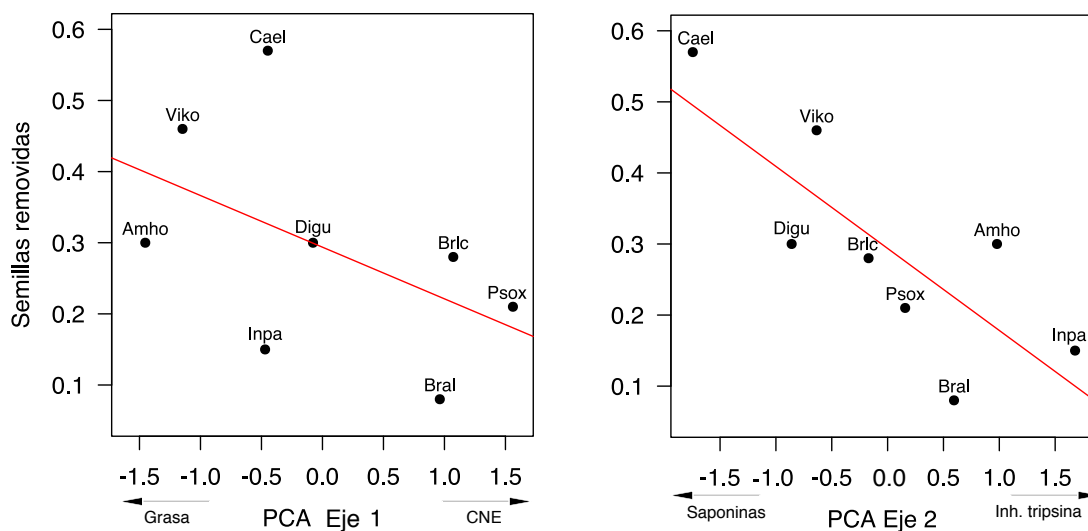
El eje 1 separó las especies cuyas semillas tuvieron el mayor contenido de CNE-menor contenido de grasa (*P. oxyphyllaria* y *Brosimum* sp.) y el mayor contenido de grasa-menor contenido de CNE (*Ampelocera hottlei* y *Virola koschnyi*). En los extremos del eje 2 se ubicaron las especies cuyas semillas tuvieron la más alta concentración de inhibidores de tripsina (*Inga pavoniana*) y de saponinas y alcaloides (*Castilla elastica*; Fig. 1). La posición intermedia de *D. guianense* en el plano de ordenación estuvo influenciada por su alto contenido de minerales, una variable cuyo mayor aporte fue al eje 3 (*score* = -0.81).



**Figura 1.** Análisis de componentes principales de los atributos de semillas de árboles tropicales. En rojo se indican los atributos bromatológicos y en azul los metabolitos secundarios. Los datos ausentes de defensa química para *P. oxyphyllaria* se trataron como NAs. Siglas: Amho = *Ampelocera hottlei*, Bral = *Brosimum alicastrum*, Brlc = *B. lactescens*, Cael = *Castilla elastica*, Digu = *Dialium guianense*, Inpa = *Inga pavoniana*, Psox = *Pseudolmedia oxyphyllaria*, Viko = *Virola koschnyi*; CNE = Carbohidratos no estructurales.

*Relación entre atributos de las semillas (resultados del PCA) y la probabilidad de remoción en el suelo de la selva*

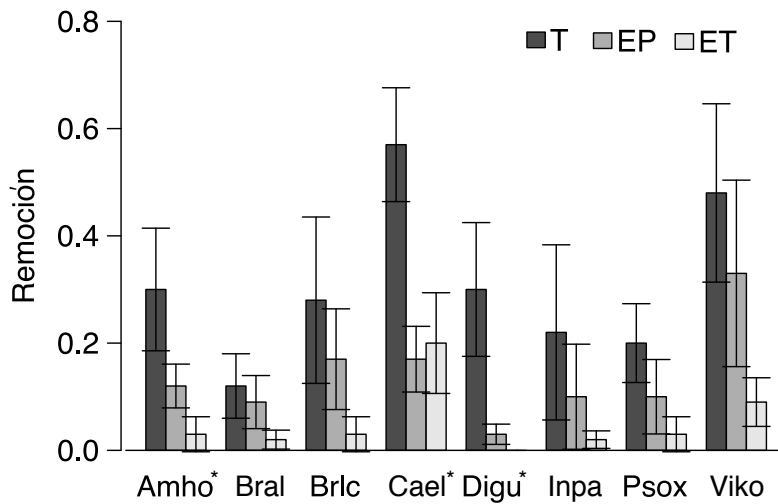
La proporción de semillas removidas en las parcelas testigo no se relacionó con el eje 1 del PCA ( $t = -1.408$ ,  $p = 0.208$ ) pero sí con el eje 2 ( $t = -3.182$ ,  $p < 0.05$ ; Fig. 2). Este segundo eje explicó el 57% de la variación observada en la remoción mientras que el primero sólo explicó el 12%. La proporción de semillas removidas en las parcelas de exclusión parcial no se relacionó con ninguno de los dos ejes del PCA.



**Figura 2.** Regresión entre la proporción de semillas removidas y los ejes multivariados 1 y 2. Las siglas son las mismas de la figura 1.

*Efecto de los tratamientos de exclusión de mamíferos sobre la remoción de semillas de cada especie en el suelo de la selva*

La remoción de las semillas de todas las especies fue mayor en las parcelas testigo (T) que en las exclusiones (Fig. 3). En general, el 29% de las semillas fue removido en las parcelas testigo, el 12% en las exclusiones parciales (EP) y 6% en las exclusiones totales (ET). La proporción de semillas removidas en ET fue una cantidad no explicada por el diseño experimental, por tanto, dicho valor fue sustraído de la proporción observada en los otros dos tratamientos. Habiendo hecho esta corrección, la diferencia entre tratamientos sólo fue estadísticamente significativa para tres especies (*A. hottlei*, *C. elastica* y *D. guianense*).



**Figura 3.** Proporción promedio de semillas removidas en las parcelas testigo (T) y en los tratamientos de exclusión parcial (EP) y total (ET). Las barras de error son errores estándar de las medias por especie en cada tratamiento, calculados con base en las réplicas (sitios). Especies que presentaron diferencias significativas entre tratamientos de exclusión aparecen marcadas con un asterisco (\*). Las siglas son las mismas de la figura 1.

#### *Fauna documentada en las parcelas testigo*

Con un esfuerzo de 412 días-cámara (323 en 2013 y 89 en 2014) se registraron 8 especies de mamíferos (Tabla 5). En 8 de los 10 sitios se registró la presencia de al menos una especie, indicando que potencialmente las semillas en las parcelas testigo estuvieron expuestas a los efectos de la actividad de estos animales. En casi el 40% de las imágenes se identificó una posible interacción de consumo o pisoteo por parte de los animales. La paca (*Cuniculus paca*) fue la especie más frecuente considerando tanto el número de sitios en la que fue registrada como el número de eventos estandarizados por el esfuerzo de muestreo.

**Tabla 5.** Características de las especies de mamíferos registradas mediante foto-trampeo en las parcelas testigo de los sitios experimentales. Categorías de dieta fueron tomados de Medellín (1994); G = Granívoro, F/H = Frugívoro/herbívoro, F/O = Frugívoro/Omnívoro, H/R = Herbívoro/ramoneador. FC = Frecuencia de Captura, calculada como Número de eventos/esfuerzo de muestreo \* 100.

Especie	Tamaño (kg) <sup>1</sup>	Dieta	FC	No. sitios	Comportamiento observado <sup>3</sup>
<i>Sciurus sp.</i>	0.22-0.46 <sup>2</sup>	G	0.24	1	NI
<i>Didelphis marsupialis</i>	1.5	F/O	0.49	2	Consumo?
<i>Dasyprocta punctata</i>	3.7	F/H	0.97	3	Pisoteo
<i>Nasua narica</i>	4.6	F/O	0.24	1	NI
<i>Cuniculus paca</i>	8.2	F/H	6.55	5	Consumo/pisoteo
<i>Mazama temama</i>	16.5	H/R	0.97	3	Consumo?
<i>Pecari tajacu</i>	26.0	F/H	0.97	3	Consumo/pisoteo
<i>Tapirus bairdii</i>	293.8	F/H	2.18	4	Pisoteo

<sup>1</sup>Tomados de la base de datos de PanTHERIA (Jones et al., 2009) y de Emmons (1999).

<sup>2</sup>Se presenta el intervalo de tamaño para las tres especies distribuidas en el área de estudio según Medellín (1994).

<sup>3</sup>Comportamiento se refiere a la interacción observada con las semillas. En el caso en que el consumo no puede asegurarse se agrega un "?". Cuando el animal fue registrado en el sitio pero no hubo interacción se señala con un "NI".

## Discusión

En este estudio incorporé el efecto diferencial de mamíferos grandes-medianos y pequeños sobre los patrones de remoción de semillas de ocho especies de árboles y encontré que la proporción de semillas removidas dependió del tamaño corporal del mamífero y se relacionó con los atributos de las semillas, principalmente la concentración de dos metabolitos secundarios: inhibidores de tripsina y saponinas.

1. ¿Qué atributos ordenan a las especies a lo largo del gradiente de concentración de tipos de compuestos?

El contenido de grasa, de fibra y de carbohidratos no estructurales (CNE) fueron las variables que más diferenciaron a las especies en el plano de ordenación pero fueron las variables relacionadas con el eje 2 del PCA (concentración de inhibidores de tripsina y saponinas) las que más se asociaron con la remoción. Esto implica que las semillas pueden tener distintas formas de reserva, en algunas predominan las grasas mientras que en otras predominan los carbohidratos, pero las variables que más

influyen en la decisión del animal parecen ser las defensas químicas de las semillas. La correlación negativa entre lípidos y CNE ha sido descrita previamente en la literatura y se explica por la existencia de un compromiso entre tipos de reservas: mientras que los lípidos al ser oxidados producen más energía que los carbohidratos, los primeros requieren una mayor inversión de energía para su biosíntesis (Ichie et al., 2001; Soriano et al., 2011). De igual forma, la correlación negativa entre CNE y fibra responde a un compromiso entre componentes químicos (Chen et al., 2012). La fibra también es un tipo de carbohidrato pero resistente a la digestión y absorción por las enzimas del animal (American Association of Cereal Chemists, 2001). Ante una fuente limitada de carbono, la planta puede utilizar sus carbohidratos como reserva de la semilla o como defensa química (Chen et al., 2012).

## 2. ¿Los atributos evaluados se relacionan con la proporción de semillas removidas?

Los atributos que más se relacionaron con la remoción fue la concentración de inhibidores de tripsina y de saponinas y en tercer lugar, el contenido de agua. Las semillas con mayor concentración de inhibidores de tripsina fueron menos removidas que las semillas con alta concentración de saponinas. Las semillas que tuvieron más saponinas también fueron las especies con mayor contenido de grasas y proteínas (*Castilla elastica*, *Dialium guianense*). Por tanto, es posible que el alto contenido de estos macronutrientes pueda atenuar o compensar los efectos negativos de los metabolitos secundarios sobre el potencial consumidor (Wang & Chen, 2012; Wang & Yang, 2015). Se sabe que el sistema de detoxificación de los mamíferos requiere de una dieta rica en nutrimentos para asegurar energía y materiales para su funcionamiento (Freeland & Janzen, 1974).

Las semillas con alto contenido de agua (*Brosimum* sp. e *Inga pavoniana*) y también con alto contenido de CNE y testas suaves (obs. pers.) fueron muy poco removidas aun cuando se sabe que son ávidamente consumidas por pecaríes (obs. pers.) y roedores como *Heteromys desmarestianus* (Martínez-Gallardo & Sánchez-Cordero, 1993). Este patrón puede entenderse si se considera que fueron las especies con los mayores porcentajes de germinación, y es posible que el alto contenido de agua contribuya a desencadenar la germinación como ocurre con otras especies de semillas recalcitrantes (Sánchez-Garduño, 1995). Según Blate et al. (1998) cuando las semillas germinan rápidamente pueden evitar ser depredadas por mamíferos, principalmente roedores. En el caso de *B. alicastrum* esta explicación se refuerza, pues fue la especie con el mayor porcentaje de semillas consumidas, de tal forma que las semillas que no lograron “escapar” germinando rápido, fueron depredadas *in situ*

y también con el dato de las semillas marcadas pues no se encontró que ninguna de las pocas semillas removidas fueran dispersadas.

Es interesante considerar por qué semillas de especies como *B. alicastrum* (mayor CNE - menor grasa) fueron más depredadas y otras como las de *A. hottlei* (mayor grasa - menor CNE) fueron más removidas. Se ha demostrado que los roedores prefieren consumir *in situ* una semilla poco valiosa y remover, para su almacenaje y posterior consumo, la que ofrece un retorno energético mayor (Wang & Yang, 2015). Como se indicó anteriormente, las grasas son una fuente de energía mucho más valiosa que los carbohidratos.

### 3. ¿Hay diferencias en la proporción de semillas removidas por especie entre tratamientos de exclusión de mamíferos?

Sólo tres especies mostraron diferencias en sus patrones de remoción entre tratamientos de exclusión de mamíferos (*Ampelocera hottlei*, *C. elastica* y *D. guianense*). Aunque se podría esperar que los mamíferos medianos-grandes removieran indistintamente las semillas de todas las especies, dado que su sistema digestivo y de detoxificación les permite consumir comida rica en fibra o en metabolitos secundarios, ellos removieron más las semillas que tuvieron los más altos contenidos de grasa (*A. hottlei* y *C. elastica*) y de proteína (*D. guianense*). En el caso de los mamíferos pequeños, *A. hottlei* y *D. guianense* fueron más removidas en la exclusión parcial que en la exclusión total, sugiriendo que fueron seleccionadas por estos animales. Al considerar el efecto de ambos grupos de animales (comparando la remoción en las parcelas testigo vs. parcelas de exclusión total), se encontró que *A. hottlei* y *D. guianense* fueron seleccionadas tanto por los mamíferos medianos-grandes como por los pequeños. En contraste, *C. elastica* fue la única especie seleccionada exclusivamente por mamíferos grandes, pues sólo cuando ellos fueron excluidos (exclusión parcial), sus semillas experimentaron menor remoción.

Si bien la remoción de semillas no debe homologarse con depredación (Vander Wall et al., 2005), se puede suponer con alta certidumbre que las semillas removidas por los roedores fueron depredadas. Estudios en otros bosques tropicales han confirmado que la manipulación de semillas por roedores corresponde a eventos de depredación (Fleury et al., 2014; Galetti et al., 2015) y también se ha demostrado que aunque las semillas removidas sean almacenadas en madrigueras tienen muy pocas probabilidades de emerger y germinar (Mendoza & Dirzo, 2007). Por el contrario, es posible que las semillas consumidas por los mamíferos medianos-grandes si hayan sido dispersadas. Semillas de tamaño similar a las incluidas en este estudio han sido



reportadas sobrevivir al paso por el tracto digestivo de mamíferos como el tapir (Fragoso & Huffman, 2000; O’Farrill et al., 2013) o los pecaríes (Beck, 2005). No obstante es riesgoso hacer fuertes generalizaciones sobre este punto pues la importancia de los mamíferos medianos-grandes como dispersores de semillas es contingente de la especie de planta en cuestión.

Es importante mencionar que las semillas limpias que se colocaron en los experimentos no necesariamente corresponden con la forma en la que son depositadas por el vector de dispersión (Vander Wall et al., 2005). Sin embargo, se decidió hacerlo de esta forma para tener un punto de comparación común para todas las especies y poder relacionar la remoción exclusivamente con los atributos de las semillas. Un diseño experimental más cercano a la realidad pero más complejo idealmente debería incluir un gradiente de presentación de las semillas, desde frutos enteros hasta semillas limpias, pasando por semillas con porciones de fruto, semillas que han pasado por el tracto digestivo del vector primario (aves, primates, murciélagos) y semillas en heces.

#### *Implicaciones en el contexto de la defaunación*

Los hallazgos de este estudio tienen dos implicaciones importantes en el contexto de la defaunación de los bosques tropicales. Por un lado, se demostró que los mamíferos medianos-grandes ejercen efectos especie-específicos seleccionando a unas especies de semillas más que a otras. Esto implica que cuando estos mamíferos son eliminados localmente, las especies de las semillas seleccionadas, y naturalmente comunes en el piso de la selva, pueden resultar favorecidas. A su vez, esto puede afectar la estructura de la comunidad regenerativa al cambiar la distribución de las abundancias de las especies y disminuir su diversidad (Camargo-Sanabria et al., 2015).

Por otro lado, se indicó previamente que los efectos predichos de la defaunación sobre la transición de semilla a plántula han considerado principalmente el tamaño de la semilla. Con base en lo encontrado en este estudio, recomiendo ampliar la investigación a otros atributos relacionados con las reservas y defensas de las semillas pues como se demostró aquí, aún dentro de un grupo de semillas de tamaño similar hay variación en el resultado de la interacción semilla-granívoro debido a la influencia de los atributos químicos de la semilla.

#### **Agradecimientos**

Agradezco la beca para Jóvenes Científicos del Programa Hombre y Biósfera de la UNESCO y la beca “The Emily-Holmes Scholarship” del Royal Botanic Gardens, Kew,

así como el financiamiento del Consejo de la Investigación Científica de la UMSNH y del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-UNAM) IN21371, otorgados a los Dres. Eduardo Mendoza y Miguel Martínez-Ramos, respectivamente. Guadalupe Pérez Escobar brindó apoyo con los análisis bromatológicos. Yolanda García y Yesenia Martínez asesoraron los análisis de los metabolitos secundarios y Anel Dueñas y Juan J. Basurto realizaron parte de los dichos análisis. Anel Dueñas prestó ayuda valiosa en campo y Eduardo Mendoza realizó comentarios a una versión previa del escrito. La SEMARNAT concedió el permiso No. 16/N1-0496/05/13 para la colecta de las semillas en la Reserva Montes Azules.

### Literatura citada

- American Association of Cereal Chemists, 2001. The definition of dietary fiber: report of the dietary fiber definition committee to the board of directors of the American Association of Cereal Chemists. Cereal Foods World.
- Azuara, D., 2005. Estimación de abundancia de mamíferos terrestres en un área de la Selva Lacandona, Chiapas. Master's thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Beck, H., 2005. Seed predation and dispersal by peccaries throughout the Neotropics and its consequences: a review and synthesis, in: Forget, P.M., Lambert, J.E., Hulme, P.E., Vander Wall, S.B. (Eds.), Seed Fate: Predation, Dispersal and Seedling Establishment. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom., pp. 77–115.
- Blate, G.M., Peart, D.R., Leighton, M., 1998. Post-dispersal predation on isolated seeds: a comparative study of 40 tree species in a Southeast Asian rainforest. *Oikos* 3, 522–538.
- Camargo-Sanabria, A.A., Mendoza, E., Guevara, R., Martínez-Ramos, M., Dirzo, R., 2015. Experimental defaunation of terrestrial mammalian herbivores alters tropical rainforest understorey diversity. *Proc. Biol. Sci.* 282, 20142580.
- Chen, X., Cannon, C.H., Conklin-Brittan, N.L., 2012. Evidence for a trade-off strategy in stone oak (*Lithocarpus*) seeds between physical and chemical defense highlights fiber as an important antifeedant. *PLoS One* 7, e32890.
- Crawley, M.J., 2000. Seed predators and plant population dynamics, in: Fenner, M. (Ed.), Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities. CAB International., pp. 167–182.
- Curran, L.M., Leighton, M., 2000. Vertebrate responses to spatiotemporal variation in seed production of mast-fruited dipterocarpaceae. *Ecol. Monogr.* 70, 101–128.
- Dirzo, R., Mendoza, E., Ortíz, P., 2007. Size related differential seed predation in a heavily defaunated neotropical rain forest. *Biotropica* 39, 355–362.
- Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J.B., Collen, B., 2014. Defaunation in the Anthropocene. *Science* (80-. ). 345, 401–406.
- Emmons, L.H., 1999. Mamíferos de los bosques húmedos de América Tropical - Una guía de campo. Editorial FAN, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.
- Falconi, F., 2011. Densidad y abundancia relativa de aves y mamíferos en el sector sur de la Reserva de la Biosfera Montes Azules y comunidades adyacentes de la Selva Lacandona,

- Chiapas, México. Thesis presented to obtain Bachelor's degree in Biology. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
- Fenner, M., 1983. Relationships between seed weight, ash content and seedling growth in twenty-four species of Compositae. *New Phytol.* 95, 697–706.
- Fenner, M., Thompson, K., 2005. *The ecology of seeds*. Cambridge University Press, New York.
- Fleury, M., Rodrigues, R.R., do Couto, H.T.Z., Galetti, M., 2014. Seasonal variation in the fate of seeds under contrasting logging regimes. *PLoS One* 9, e90060.
- Fragoso, J.M.V., Huffman, J.M., 2000. Seed-dispersal and seedling recruitment patterns by the last Neotropical megafaunal element in Amazonia, the tapir. *J. Trop. Ecol.* 16, 369–385.
- Freeland, W.J., Janzen, D.H., 1974. Strategies in herbivory by mammals: the role of plant secondary compounds. *Am. Nat.* 108, 269–289.
- Galetti, M., Bovendorp, R.S., Guevara, R., 2015. Defaunation of large mammals leads to an increase in seed predation in the Atlantic forests. *Glob. Ecol. Conserv.* 3, 824–830.
- Garmendia, A., Arroyo-Rodriguez, V., Estrada, A., Naranjo, E., Stoner, K.E., 2013. Landscape and patch attributes impacting medium- and large-sized terrestrial mammals in a fragmented rain forest. *J. Trop. Ecol.* 39, 331–344.
- Guimarães, P.R., José, J., Galetti, M., Trigo, J.R., 2003. Quinolizidine alkaloids in *Ormosia arborea* seeds inhibit predation but not hoarding by agoutis (*Dasyprocta leporina*). *J. Chem. Ecol.* 29, 1065–72.
- Hautier, Y., Saner, P., Philipson, C., Bagchi, R., Ong, R.C., Hector, A., 2010. Effects of seed predators of different body size on seed mortality in Bornean logged forest. *PLoS One* 5, e11651.
- Ichie, T., Ninomiya, I., Ogino, K., 2001. Utilization of seed reserves during germination and early seedling growth by *Dryobalanops lanceolata* (Dipterocarpaceae). *J. Trop. Ecol.* 17, 371–378.
- INE, 2000. Programa de manejo de la Reserva de la Biósfera Montes Azules. México.
- Jones, K.E., et al., 2009. PanTHERIA: a species-level database of life history, ecology, and geography of extant and recently extinct mammals. *Ecology* 90, 2648–2648.
- Kuprewicz, E.K., García-Robledo, C., 2010. Mammal and insect predation of chemically and structurally defended *Mucuna holtonii* (Fabaceae) seeds in a Costa Rican rain forest. *J. Trop. Ecol.* 26, 263–269.
- Leigh, E.G.J., 1999. *Tropical Forest ecology. A view from Barro Colorado island*. Oxford University Press.
- Martínez-Gallardo, R., Sánchez-Cordero, V., 1993. Dietary value of fruits and seeds to spiny pocket mice, *Heteromys desmarestianus*. *J. Mammal.* 74, 436–442.
- Medellin, R.A., 1994. Mammal diversity and conservation in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. *Conserv. Biol.* 8, 780–799.
- Mendoza, E., Dirzo, R., 2009. Seed tolerance to predation: evidence from the toxic seeds of the buckeye tree (*Aesculus californica*; Sapindaceae). *Am. J. Bot.* 96, 1255–1261.
- Mendoza, E., Dirzo, R., 2007. Seed-size variation determines interspecific differential predation by mammals in a neotropical rain forest. *Oikos* 116, 1841–1852.
- Mendoza, E., 2005. Efectos de la defaunación contemporánea tropical: consecuencias sobre

- los procesos ecológicos y la biodiversidad. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Moles, A.T., Westoby, M., 2004. Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. *J. Ecol.* 92, 372–383.
- Nathan, R., Muller-Landau, H.C., 2000. Spatial patterns of seed dispersal, their determinants and consequences for recruitment. *Trends Ecol. Evol.* 15, 278–285.
- O’Farrill, G., Galetti, M., Campos-Arceiz, A., 2013. Frugivory and seed dispersal by tapirs: An insight on their ecological role. *Integr. Zool.* 8, 4–17.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O’Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Wagner, H., 2013. *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.0-9. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- R Core Team, 2015. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Sánchez-Garduño, C.M., 1995. Ecología de la depredación predispersión en semillas de *Nectandra ambigua* en Los Tuxtlas. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Soriano, D., Orozco-Segovia, A., Marquez-Guzman, J., Kitajima, K., Gamboa-de Buen, A., Huante, P., 2011. Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Ann. Bot.* 107, 939–951.
- Tahvanainen, J., Niemela, P., Henttonen, H., 1991. Chemical aspects of herbivory in boreal forest-feeding by small rodents, hares, and cervids, in: Thomas Palo, R., Robbins, C.T. (Eds.), *Plant Defenses against Mammalian Herbivory*. CRC Press, Inc., Boston, pp. 116–126.
- Towns, V.S., 2013. Monitoreo poblacional de algunas especies de mamíferos de talla mayor en la selva alta perennifolia del estado de Chiapas, México. Master’s thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Vander Wall, S.B., Kuhn, K.M., Beck, M.J., 2005. Seed removal, seed predation, and secondary dispersal. *Ecology* 86, 801–806.
- Villanueva, H.Z., 2001. Estructura de la comunidad de pequeños mamíferos en diversos hábitats en la Selva Lacandona, Chiapas, México. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Wang, B., Chen, J., 2012. Effects of fat and protein levels on foraging preferences of tannin in scatter-hoarding rodents. *PLoS One* 7, e40640.
- Wang, B., Yang, X., 2015. Seed removal by scatter-hoarding rodents: The effects of tannin and nutrient concentration. *Behav. Processes* 113C, 94–98.
- Xiao, Z., Wang, Y., Harris, M., Zhang, Z., 2006. Spatial and temporal variation of seed predation and removal of sympatric large-seeded species in relation to innate seed traits in a subtropical forest, Southwest China. *For. Ecol. Manage.* 222, 46–54.
- Zhang, H., Zhang, Z., 2008. Endocarp thickness affects seed removal speed by small rodents in a warm-temperate broad-leaved deciduous forest, China. *Acta Oecologica* 34, 285–293.

## **Apéndice 1.** Protocolo para el análisis de química proximal de las semillas.

Las condiciones ambientales para la operación del equipo fueron: humedad relativa entre 40 - 65%, temperatura ambiente: 19.5 – 21.5 °C. Los valores se reportan como porcentaje del material en base seca (material deshidratado).

**Humedad:** Peso constante de crisoles y secado de las muestras en estufa a 100 °C por 4 horas.

**Cenizas:** Peso constante de crisoles en estufa a 100 °C por 4 horas e incineración en mufla a 550 °C por 6h.

**Proteína cruda:** Digestión 100 minutos a 384 °C, destilación con ácido bórico al 1% y mezcla de catalizadores, titulación con solución de ácido sulfúrico 0.05 N valorado. El factor usado para convertir de nitrógeno a proteína cruda fue 6.25.

**Grasa:** Extracción con éter de petróleo por 10 h en el equipo Soxhlet.

**Fibra cruda:** Digestión ácida/alcalina en parrilla y filtración en crisol *gooch*.

**Carbohidratos no estructurales (CNE):** se calculan por diferencia sobre una base de 100% luego de estimar el contenido de los anteriores compuestos.

### Referencias bibliográficas

1. NOM-116-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa.
2. NMX-F-607-NOMRMEX-2002. Alimentos. Determinación de cenizas en alimentos.
3. METODO INTERNO ET-BR04. Proteína cruda.
4. NMX-F-615-NORMEX-2004. Determinación de extracto etéreo (Método Soxhlet) en alimentos.
5. NMX-F-613-NORMEX-2003. Alimentos. Determinación de fibra cruda en alimentos.
6. Irma Tejada de Hernández. Análisis de alimentos. 1986.

## **Apéndice 2.** Protocolo para el análisis de los metabolitos secundarios de las semillas.

El protocolo consistió en cinco pasos: secado, molido, desengrasado, extracción y determinación cuantitativa del metabolito. Los primeros tres pasos son comunes para todos los compuestos mientras que los pasos 4 y 5 se detallan para cada metabolito. La concentración del metabolito se reporta en mg/g de harina seca.

1. Secado: las semillas se colocaron sobre charolas plásticas en la campana de extracción por al menos 12 horas. Cuando se comprobó que las semillas estaban secas se colocaron en bolsas etiquetadas.
2. Molido: primero se retiraron residuos de arilo o pulpa de la semilla; luego éstas fueron trituradas en trozos pequeños y pasadas por un molino de 7 velocidades Osterizer (modelo 466-813-000) o un molino Krups (6X4100) para las semillas más duras de *D. guianense*. En algunas semillas se repitió el paso de secado pues la harina obtenida continuaba húmeda. La harina seca de cada especie fue colocada en sobres de papel, pesada y almacenada en el refrigerador.
3. Desengrasado: la harina de cada especie fue desengrasada usando el equipo Soxhlet y dos solventes orgánicos de acuerdo al metabolito a analizar. Se utilizó hexano para el análisis de fenoles, inhibidores de tripsina y saponinas, y metanol para la prueba de alcaloides. El aceite fue colocado en frascos ámbar y dejado a temperatura ambiente para evaporar el solvente orgánico, luego fue almacenado en el refrigerador a 12 °C. La harina desengrasada se secó extendida sobre charolas plásticas por 30 minutos en la campana de extracción, luego fue guardada en sobres de papel. Todas las muestras de harina se almacenaron en una caja plástica a temperatura ambiente hasta su extracción.

### ***Protocolo para el análisis de fenoles basado en Makkar et al. (2007)<sup>1</sup>***

#### *Soluciones.*

- Solución estándar de ácido tánico: Pesar 25 mg de ácido tánico y disolverlo en 25 ml de agua destilada. De esta solución tomar 1 ml y agregarle 9 ml de agua destilada (de esta última se utiliza para hacer el análisis y la concentración es 0.1 mg/ml de ácido tánico).

---

<sup>1</sup> Makkar, H.P.S., Siddhuraju, P., Becker, K., 2007. Methods in molecular biology. Plant secondary metabolites. Humana Press Inc., New Jersey.

- Reactivo de Folin (1N): El reactivo de Folin se diluye en un volumen igual de agua destilada, 5 ml de cada uno (se debe guardar en un frasco oscuro a 4 °C, se deja de usar cuando el color se torna verde oliva).
- Carbonato de sodio al 20%: Pesar 40 g de carbonato de sodio disolverlo en 200 ml de agua destilada (primero se disuelve en 150 ml, ponerlo en agitación en la plancha, una vez disuelto se lleva a un volumen final de 200 ml).

*Obtención de curva estándar.*

1. La curva estándar se hace por triplicado, se utilizaron tubos de ensayo.
2. Los reactivos se adicionan en el siguiente orden: ácido tánico, agua, folin, carbonato.

TUBO	Ácido tánico (ml)	Agua destilada (ml)	Reactivo folin (ml)	Carbonato de sodio (ml)	Ácido tánico [ ]
B	0	0.50	0.25	1.25	0
T1	0.02	0.48	0.25	1.25	2
T2	0.04	0.46	0.25	1.25	4
T3	0.06	0.44	0.25	1.25	6
T4	0.08	0.42	0.25	1.25	8
T5	0.10	0.40	0.25	1.25	10
T6	0.12	0.38	0.25	1.25	12
T7	0.14	0.36	0.25	1.25	14
T10	0.2	0.3	0.25	1.25	20
T11	0.24	0.26	0.25	1.25	24
T12	0.28	0.22	0.25	1.25	28
T14	0.36	0.14	0.25	1.25	36
T16	0.44	0.06	0.25	1.25	44

3. Después de haber adicionado todos los reactivos (volumen total 2 ml), agitar en el vórtex los tubos 1 min (siempre el mismo tiempo para todas las muestras) e incubarlos en la obscuridad durante 40 min a temperatura ambiente (la gradilla con los tubos se puede envolver en papel aluminio). (Los tubos deben dar una coloración azul).
4. Leer absorbancia a 725 nm. Se calibra con agua destilada a 0. Esto se repite después de cada medición del triplicado.

*Extracción de la muestra.*

1. Para este análisis se utiliza harina desgrasada.
2. Pesar 0.5 g de harina en un tubo falcón.

3. Adicionar 10 ml de acetona al 70%.
4. Sonicar el tubo con la muestra durante 20 minutos.
5. Centrifugar a 3800 rpm durante 10 minutos.
6. Utilizar el sobrenadante para el ensayo.

*Análisis de las muestras para cuantificación de fenoles.*

1. Etiquetar tubos. Tres repeticiones por muestra.
2. Se agregan 50 µl de sobrenadante. (Este valor puede ser mayor si la concentración de fenoles en las muestras es muy baja).
3. Se agregan 450 µl de agua destilada.
4. Se agregan 250 µl de folin.
5. Se agregan 1250 µl de Carbonato de sodio. El volumen total es de 2 ml.
6. Vortexear por 1 min.
7. Incubar en la oscuridad por 40 min.
8. Leer absorbancia a 725 nm

***Protocolo para el análisis de inhibidores de tripsina basado en Makkar et al. (2007)***

*Soluciones.*

- Tris buffer (0.5 M pH 8.2): Pesar 6.05 g de Tris y 2.94 gr de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, disolverlos en 900 ml de agua, después ajustar pH a 8.2 (con ácido clorhídrico y/o hidróxido de sodio) y finalmente aforar a 1 L con agua destilada. Después de preparado meter a baño de maría a 37°C hasta su uso. (Preparar el mismo día de uso).
- Solución tripsina: Pesar 20 mg de tripsina y disolverlo en 1 L de HCl (0.001 M). (Se puede almacenar dos o tres semanas en el refrigerador).
- Reactivo (Bapna): Pesar 24 mg de Bapna, disolverlo en 600 µl de Dimetil sulfóxido. Después aforar a 60 ml con el Tris buffer precalentado a 37°C. Esta solución meterla a baño María a 37 °C hasta su uso, taparlo con papel aluminio. (Preparar el mismo día de uso).
- Ácido acético al 15%.
- Hidróxido de sodio 0.01 M.



*Extracción de la muestra.*

1. Pesar 0.5 gr de harina desgrasada (en tubos falcón limpios de 15 ml).
2. Agregar 12.5 ml de NaOH (0.01 M).
3. Sonicar las muestras durante 1 hora.
4. Ajustar el pH de la muestra entre 9.4 – 9.6. Entre cada aplicación del ácido o la base, agitar en el vórtex por 30 s para mezclar.
5. Sonicar las muestras durante 40 min.
6. Centrifugar a 3600 rpm durante 15 minutos\*.

\*Estos tubos se pueden conservar en refrigeración para continuar el protocolo uno o dos días después.

*Análisis de las muestras para cuantificación de inhibidores de tripsina.*

1. Lavar tubos falcón (15 ml).
2. Si las muestras se conservaron en el refrigerador, centrifugar nuevamente a 3600 rpm por 15 minutos.
3. Etiquetar de la siguiente manera y adicionar los solventes en el siguiente orden:
  - M1: 500 µl de la muestra + 1500 µl de agua dest.
  - M2: 1000 µl de la muestra + 1000 µl de agua dest.
  - M3: 1500 µl de la muestra + 500 µl de agua dest.

M1, M2 y M3 se hicieron para determinar a qué vol. de muestra se detectan los inhibidores. Cualquiera que sea el volumen de muestra elegido, es el mismo que debe usarse en el blanco de muestra.

  - B.M. (blanco de muestra): 1500 µl de la muestra problema + 500 µl de agua dest.
  - B.R. (blanco de reactivo): 2000 µl de agua dest.
  - Estándar: 2000 µl de agua dest.

El volumen hasta aquí debe ser 2000 µl. Se realiza por triplicado.
4. Adicionar 2000 µl de tripsina antes del baño de maría a las muestras y estándar.
5. Vortexear las muestras y estándar 1 min.
6. Meter al baño maría a 37 °C hasta antes de agregar el bapna.
7. Agregar 5 ml (5000 µl) de solución bapna a todos los tubos (muestras, BM, BR y E).
8. Incubar todos los tubos 10 min en el baño maría (37 °C).
9. Sacar los tubos.

10. Adicionar 1 ml de ácido acético al 15% (en la campana) a todos los tubos.

11. Adicionar 2 ml de tripsina a BM y BR únicamente.

12. Centrifugar a 3000 rpm durante 10 minutos.

13. Leer absorbancia a 410 nm. Nota: calibrar con agua a cero

\*\*No se necesita curva estándar porque la concentración se calcula aplicando la fórmula especificada en Makkar et al. (2007, pp. 5).

### ***Protocolo para el análisis de saponinas basado en Makkar et al. (2007)***

#### *Soluciones.*

Todos los reactivos se preparan el día en que se van utilizar.

- Metanol al 80%.

$$C1V1 = C2V2$$

$$(99.95\%) * (V1) = (80\%) * (100 \text{ ml})$$

$$V1 = (80\%) (100 \text{ ml}) / (99.95\%)$$

V1= 80 ml (tomar 80 ml de metanol concentrado y aforar a 100 ml con agua destilada).

- Vainillina: Pesar 1.6 g de vainillina y disolverlo en 20 ml de metanol concentrado (directo del frasco), agitar 5 min en plancha y cubrir el vaso por completo con papel aluminio.
- Ácido sulfúrico: Preparar ácido sulfúrico al 72% y aforar con agua.
- Diosgenina: Pesar 5 mg de diosgenina. En un vaso precipitado agregar la diosgenina más 4 ml de agua destilada. Ponerlo en una plancha en agitación a 40 °C durante 10 minutos. Después agregar 16 ml de metanol concentrado (puro), dejar agitándolo a esa misma temperatura hasta que se disuelva. Tapar el vaso precipitado con papel aluminio.

#### *Extracción de la muestra.*

1. Pesar 0.5 g de harina desgrasada en un tubo falcon de 15 ml.
2. Adicional 10 ml de metanol al 80%.
3. Dejar agitando los frascos durante 30 min a velocidad baja.
4. Después ese mismo tubo centrifugar a 3800 rpm durante 10 minutos.
5. Extraer el sobrenadante y colectarlo en otro tubo falcon de 50 ml.

- Adicionar 5 ml de metanol al 80% al tubo que tiene los residuos de la harina y centrifugar a 3800 rpm durante 10 minutos (repetir este paso 3 veces, es decir, realizar tres extracciones de la misma muestra).

Debe obtenerse 25 ml de sobrenadante. Se puede refrigerar a 12 °C hasta su uso.

*Obtención de curva estándar.*

- Lavar bien los tubos falcón (15 ml) con tapa.
- Etiquetar los tubos (mientras preparar el baño María a 60 °C y también el baño de hielo). Ver tabla.
- Agregar el metanol y la diosgenina a los tubos.
- El volumen total hasta aquí debe ser de 250 µl.
- Meter los tubos al baño de hielo, sacar para agregar 250 µl de vainillina a todos los tubos. Poner los tubos en baño de hielo para que la vainillina no reaccione, sacarlos de baño hasta que se vaya agregar el ácido sulfúrico.
- Después se sacan los tubos del baño de hielo y se le adiciona 2500 µl de ácido sulfúrico al 72% a todos los tubos.
- Tapar los tubos.
- Vortexear por 30 s.
- Meter los tubos al baño maría durante 10 minutos a 60 °C.
- Después sacar los tubos y dejar que se enfríen en baño de hielo.
- Leer absorbencia a 544 nm (calibrar con el blanco).

Tubos	Metanol 80% (µl)	Diosgenina (µl)	Vainillina (µl)	Ac. Sulfúrico 72% (µl)	Diosgenina (µg)
B	250	0	250	2500	0
1	200	50	250	2500	50
2	150	100	250	2500	100
3	100	150	250	2500	150
4	50	200	250	2500	200
5	0	250	250	2500	250

*Análisis de las muestras para cuantificación de saponinas.*

Para este análisis se realiza exactamente el mismo procedimiento mencionado para la curva estándar solamente que se cambia el volumen de diosgenina por el volumen de la muestra problema.

100 µl de la muestra problema + 150 µl de metanol al 80 %. Volumen = 250 µl

150 µl de la muestra problema + 100 µl de metanol al 80 %. Volumen = 250 µl

Tubos	Metanol 80% (µl)	Sobrenadante (µl)	Vainillina (µl)	Ac. sulfúrico 72% (µl)
Blanco	250	0	250	2500
1*	150	100	250	2500
2*	100	150	250	2500

\*1 y 2 también son pruebas para determinar el vol. de la muestra que sirve para la detección.

### **Protocolo para el análisis de alcaloides.**

Basado en los artículos de Suau et al. (2002). *Direct Determination of Alkaloid Contents in Fumaria Species by GC-MS* y Maiza-Benabdesselam et al. (2007). *Determination of isoquinoline alkaloids contents in two Algerian species of Fumaria (Fumaria capreolata and Fumaria bastardi)*. Aclaraciones adicionales recibidas por correo electrónico de los doctores Francisco Nájera Albendín y Rodrigo Rico Gómez (España).

#### *Extracción de la muestra.*

1. La extracción se llevó a cabo en un aparato Soxhlet con capacidad de 250 ml, utilizando metanol como agente extractor (100 ml).
2. 210 g de material seco son extraídos durante 14 h (3 h).
3. Extracto metanólico se concentra a presión reducida hasta unos 0.5 ml y se filtran con 10 ml de HCl al 2.5%.
4. La disolución ácida es basificada a pH 8 con hidróxido de amonio concentrado y extraído con diclorometano (3 veces con 50 ml cada vez), esto en un matraz de separación y se guarda la fase aceitosa en frasco ámbar.
5. La parte con alcaloides (aceitosa, que contiene el extracto bruto de los alcaloides) se pasa por un papel filtro que contendrá una cucharada de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Se vacía el contenido aceitoso, el papel filtro se coloca en un embudo sobre un soporte universal y el líquido se colecta en un frasco ámbar.

#### *Cuantificación de alcaloides.*

1. Se toman alícuotas de 1 ml de disolución con diclorometano y se valoran con 25 ml ácido p- toluenosulfónico (0.01 N) utilizando como indicador 3 gotas de bromocresol (0.5 g) + 99.5 ml hexano con etanol al 0.5%.
2. La disolución del ácido se preparó disolviendo 1.9 g de ácido en 10 ml de metanol y enrasando hasta 1 L con diclorometano.

**Apéndice 3.** Atributos de ocho especies de semillas colectadas en la Reserva de la Biósfera Montes Azules.

Family	Species	Stratum	Height (m)	Seedling Type	Fruit Type	No Seeds	Storage Seed	Dispersal Agent	Flowering	Fruiting
Ulmaceae	<i>Ampelocera hottlei</i>	S <sup>1</sup>	25 <sup>3</sup>	CHR <sup>1</sup>	Drupa <sup>3</sup>	1 <sup>5</sup>	-	Primates <sup>12</sup>	Dec-Apr <sup>17</sup>	Apr-Jun <sup>18</sup>
Moraceae	<i>Brosimum alicastrum</i>	C <sup>1</sup>	30 <sup>3</sup>	CHR <sup>7</sup>	Baya <sup>3</sup>	1 <sup>5</sup>	-	Bats, birds <sup>15,1</sup>	Nov-Feb <sup>5</sup>	Apr-Jun <sup>17</sup>
Moraceae	<i>Brosimum lactescens</i>	C <sup>1</sup>	30 <sup>3</sup>	CHR <sup>8</sup>	Baya <sup>8</sup>	1-2 <sup>8</sup>	-	Animal <sup>13</sup>	-	Jun-Sep <sup>18</sup>
Moraceae	<i>Castilla elastica</i>	C <sup>2</sup>	20 <sup>4</sup>	CHR <sup>7</sup>	Drupa agregada <sup>5</sup>	> 20 <sup>8</sup>	Recal? <sup>11</sup>	Bats, birds <sup>15</sup>	Mar-Jun <sup>5</sup>	Apr-Jun <sup>18</sup>
Fabaceae	<i>Dialium guianense</i>	C <sup>1</sup>	35 <sup>5</sup>	PER <sup>1</sup>	Legumbre <sup>10</sup>	1-2 <sup>8</sup>	Orto <sup>11</sup>	Birds <sup>1</sup>	Aug-Sep <sup>5</sup>	Feb-Sep <sup>18</sup>
Fabaceae	<i>Inga pavoniana</i>	S <sup>1</sup>	15 <sup>3</sup>	CHR <sup>1</sup>	Legumbre <sup>3</sup>	12-18 <sup>6</sup>	Recal <sup>11</sup>	Birds, mammals <sup>15,6</sup>	Feb-Apr <sup>3</sup>	Mar-Oct <sup>18</sup>
Moraceae	<i>Pseudolmedia oxyphyllaria</i>	S <sup>1</sup>	25 <sup>3</sup>	CHR <sup>1</sup>	Baya <sup>3</sup>	1 <sup>8</sup>	-	Birds, mammals <sup>9,1</sup>	Jan-Apr <sup>5</sup>	May-Jun <sup>18</sup>
Myristicaceae	<i>Virola koschnyi</i>	C <sup>2</sup>	35 <sup>6</sup>	CE <sup>6</sup>	Cápsula <sup>6</sup>	1 <sup>8</sup>	Recal <sup>11</sup>	Birds, primates <sup>16</sup>	Aug-Sep <sup>2</sup>	Mar-Aug <sup>18</sup>

Stratum: S = subcanopy; C = canopy. Seedling type: CHR = cryptocotylar, hypogeal, reserve; PER = phanerocotylar, epigeal, reserve; CE = cryptocotylar, epigeal, reserve. Storage seed: Recal = Recalcitrante; Orto = Ortodoxa.

**Fuentes:**

- <sup>1</sup> Ibarra-Manríquez et al. 2001. Seedling functional types in a lowland rain forest in Mexico. *American Journal of Botany* 88: 1801-1812.
- <sup>2</sup> Frankie et al. 1974. Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology* 62: 881-919.
- <sup>3</sup> Ibarra-Manríquez y Sinaca. 1996. Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas", Veracruz, Mx: Lista florística comentada (Mimosaceae-Verbenaceae). *Rev. Biol. Trop.* 44: 41-60.
- <sup>4</sup> Flora of Barro Colorado Island. STRI <http://biogeodb.stri.si.edu/biinformatics/croat/home>
- <sup>5</sup> Pennington y Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. UNAM. Fondo de Cultura Económica.
- <sup>6</sup> Vozzo (ed). 2010. Manual de semillas de árboles tropicales. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Servicio Forestal.
- <sup>7</sup> Garwood y Tebbs. 2009. Seedlings of Barro Colorado Island and the neotropics. Comstock Pub. Associates/Cornell University Press. London.

Continuación.

Species	Seed length (mm)	Seed weight (mm)	Hardness <sup>a</sup>	Water <sup>b</sup>	Fat <sup>b</sup>	Protein <sup>b</sup>	Ash <sup>b</sup>	Fiber <sup>b</sup>	NSC <sup>b</sup>	Trypsin <sup>c</sup>	Saponins <sup>c</sup>	Alkaloids <sup>c</sup>	Phenols <sup>c</sup>
<i>Amho</i>	12.5	9.5	2	37.1	28.7	16.6	2.4	26.7	25.7	146.9	0.2	0.3	1.3
<i>Bral</i>	15.8	10.7	1	58.6	1.0	10.0	4.2	5.2	79.7	155.3	0.0	0.5	0.4
<i>Brla</i>	9.7	6.6	1	41.3	1.10	8.93	2.19	4.76	83.0	21.1	0.0	0.3	0.3
<i>Cael</i>	10.3	7.8	2	29.6	26.7	9.05	2.3	8.2	53.8	4.3	0.6	0.7	0.1
<i>Digu</i>	9.5	7.9	3	24.0	1.9	16.04	7.36	6.36	68.4	40.1	0.3	0.2	1.9
<i>Inpa</i>	15.5	9.8	1	54.8	19.0	19.0	2.11	18.95	41.0	157.8	0.0	0.3	0.3
<i>Psox</i>	17.7	14.9	2	54.8	1.72	7.8	3.33	4.08	83.1	-	-	-	--
<i>Viko</i>	15.3	13.0	2	36.2	57.1	9.74	2.54	14.22	16.64	16.8	0.3	0.4	0.9

<sup>a</sup> Escala cualitativa (Blate et al. 1998), "1" si podía ser penetrada fácilmente por la uña, "2" si se podía pero con dificultad y "3" si sólo se podía penetrar con un objeto punzante. <sup>b</sup> Reportados en g/100 g equivalente a %. <sup>c</sup> Reportados en mg/g de harina seca.

<sup>8</sup> Observación personal.

<sup>9</sup> Estrada y Coates-Estrada. 1986. Frugivory by howling monkeys (*Alouatta palliata*) at Los Tuxtlas, Mexico: dispersal and fate of seeds. In: Estrada y Fleming (eds.), pp. 93-104.

<sup>10</sup> Ibarra-Manríquez y Sinaca. 1995. Lista florística comentada de la Estación de Biología Tropical "Los Tuxtlas", Veracruz, México. Rev. Biol. Trop. 43: 75-115.

<sup>11</sup> Seed Information Database. Royal Botanic Gardens, Kew. <http://data.kew.org/sid/sidsearch.html>

<sup>12</sup> González-Di Piero et al. 2011. Effects of the physical environment and primate gut passage on the early establishment of *Ampelocera hottlei* Standley in rain forest fragments. Biot. 43:459-466.

<sup>13</sup> Benitez-Malvido & Lemus-Albor. 2005. The seedling community of tropical rain forest edges and its interaction with herbivores and pathogens. Biotropica 37: 301-313.

<sup>14</sup> Plant reproduction species list. STRI. [http://stri.si.edu/sites/esp/tesp/plant\\_species.htm](http://stri.si.edu/sites/esp/tesp/plant_species.htm)

<sup>15</sup> Foster et al. 1986. Dispersal and the sequential plant communities in Amazonian Peru floodplain. In: Estrada y Fleming (eds.), pp. 357-370.

<sup>16</sup> Russo. 2003. Responses of dispersal agents to tree and fruit traits in *Virola calophylla* (Myristicaceae): implications for selection. Oecologia, 136: 80-87.

<sup>17</sup> Ibarra-Manríquez y Oyama. 1992. Ecological correlates of reproductive traits of Mexican rain forest trees. American Journal of Botany 79: 383-394.

<sup>18</sup> Datos LEPTC – IIES.

**CAPÍTULO V**  
**DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES**

Angela A. Camargo-Sanabria

## Relevancia de las interacciones planta-mamífero en los bosques tropicales en el contexto de la defaunación

La crisis de la biodiversidad que enfrentamos hoy en día se ha abordado principalmente desde el punto de vista de la pérdida de especies. Sin embargo, la extinción de las interacciones ecológicas, que son fundamentales para mantener la estabilidad y funcionalidad de los ecosistemas (McConkey & O’Farrill, 2015), generalmente acompaña o precede la desaparición de especies (Valiente-Banuet et al., 2015). En los trópicos, los mamíferos herbívoros se distinguen por ser uno de los grupos de vertebrados más amenazado (Hoffmann et al., 2011) y por participar en una amplia variedad de interacciones que afectan diversos estadios del ciclo de vida de las plantas (Danell & Bergstrom, 2002). La reducción dramática de muchas poblaciones de mamíferos a nivel global y en particular el deterioro del estado de conservación de los ungulados sugieren que probablemente se presentarán eventos futuros de extinción ecológica (Ceballos & Ehrlich, 2002; Di Marco et al., 2014; McConkey & O’Farrill, 2015). Este marco referencial que reconoce la importancia de las interacciones ecológicas fundamentó el desarrollo de la presente tesis. Su objetivo general fue analizar el papel de las interacciones entre plantas y mamíferos, en el sotobosque, en el mantenimiento de la diversidad de la comunidad regenerativa en una selva húmeda tropical. Los hallazgos aquí presentados contribuirán a lograr un mejor entendimiento de las posibles implicaciones de la defaunación en los bosques tropicales.

Enmarcados en el planteamiento conceptual presentado al inicio de esta tesis (ver Fig. 1, Cap. I, p. 24), los capítulos de investigación profundizaron en tres de las interacciones (frugivoría, herbivoría, granivoría) en las que participan los mamíferos herbívoros en la selva tropical y que influyen en el reclutamiento y la regeneración de las especies de árboles. Recapitulando, los principales aportes de esta tesis fueron: 1) evidenciar la importancia de la interacción entre mamíferos frugívoros y plantas en el suelo de la selva, 2) mostrar el tipo de consecuencias que puede producir la defaunación de mamíferos herbívoros sobre la comunidad regenerativa y 3) explorar un posible mecanismo que explique los efectos de la defaunación de mamíferos herbívoros sobre la comunidad regenerativa. En esta discusión general intentaré relacionar los resultados más relevantes de cada capítulo, analizaré sus implicaciones e identificaré cuestionamientos, que a mi juicio, son necesarios incluir en futuras rutas de investigación.



El primer paso para analizar la relevancia de las interacciones entre plantas y mamíferos fue documentar la presencia de la fauna y tener una medida de la magnitud de las interacciones en las que participan en el sitio de estudio. Así, en el capítulo II analicé las características del ensamble de mamíferos medianos y grandes que visitó los árboles en fructificación de dos especies de fruto grande (*Licania platypus* y *Pouteria sapota*) que contrastaron en su densidad poblacional y en la composición química de sus frutos. A través de las imágenes obtenidas con la técnica de foto-trampeo, determiné la riqueza y la composición de especies de mamíferos visitantes y obtuve una medida de la fuerza de la interacción fruto-mamífero. Con base en estas medidas cuantitativas mostré que el tapir (*Tapirus bairdii*), el pecarí (*Pecari tajacu*) y el tepezcuintle (*Cuniculus paca*) fueron los frugívoros más importantes. Asimismo, que especies cuyo hábito trófico primario no es la frugivoría mantuvieron interacciones de variada intensidad. Aunque no hubo diferencias significativas en la riqueza de especies que visitó cada especie de árbol, el mamey (*P. sapota*) con una densidad poblacional menor y frutos ricos en carbohidratos sostuvo interacciones más fuertes con los mamíferos de mayor tamaño.

Estos hallazgos tienen implicaciones a distintos niveles. Primero, aunque no documenté el destino final de las semillas de los frutos consumidos, se sabe que al remover la pulpa, el frugívoro contribuye a la germinación de las semillas mediante la eliminación de químicos inhibidores de la germinación y la reducción de la probabilidad de ataque por microbios y hongos (Traveset, 1998). Por tanto, es probable que todas las especies de mamíferos observadas consumiendo la pulpa de los frutos de *P. sapota* y *L. platypus* estén favoreciendo en alguna medida la germinación de sus semillas. Por otro lado, dentro de los frugívoros identifiqué que el aguti (*Dasyprocta punctata*) no sólo removió frutos sino también semillas del mamey. Los agutis (*Dasyprocta* spp.) son roedores que contribuyen a la regeneración de muchas especies de plantas cuando almacenan semillas (scatter-hoarding) pero olvidan recuperarlas (Jansen & Forget, 2001). A su vez, se sabe que las plantas influyen el comportamiento del roedor a través de la presencia de barreras físicas (por ej. endocarpos duros) que incrementan el tiempo de manipulación (Vander Wall, 2010). Es posible que la cáscara y la pulpa de los frutos estudiados aquí estén jugando un rol similar al que cumple el endocarpo en algunas especies de palma. Por tanto, se propone que además de las interacciones fruto-mamífero claramente registradas en este estudio, hay interacciones positivas entre las especies de frugívoros. Cuando el tapir, el pecarí, el coatí e incluso la taira remueven la pulpa, están dejando la semilla

más rápidamente disponible para roedores medianos como el aguti, favoreciendo su posible rol como dispersor secundario en este sistema.

Otra implicación importante de estos hallazgos es que en los bosques tropicales mexicanos el 20% de las especies arbóreas tienen frutos tipo drupa como los estudiados aquí con un tamaño de 3 a 145 mm de longitud (Ibarra-Manríquez & Cornejo-Tenorio, 2010). Es altamente probable que un número apreciable de especies con frutos grandes (> 100 mm), dependan casi exclusivamente de los servicios de dispersión de los mamíferos terrestres medianos y grandes. Por tanto, puede predecirse que en un escenario de defaunación diferencial estas especies de plantas serán las primeras en experimentar una potencial limitación al reclutamiento, como ha sido evidenciado en otras especies de árboles de semilla grande en los bosques tropicales (Brodie et al., 2009; Galetti et al., 2006).

Habiendo puesto de manifiesto la presencia de la fauna de interés en el área de estudio y la magnitud de su papel como herbívoros (en el amplio sentido de la palabra), me pregunté: ¿Qué pasaría con la comunidad regenerativa de las especies de árboles si esta fauna no estuviera presente? Estudios previos predijeron que la eliminación de los mamíferos depredadores de semilla y de plántulas, aumentaría la supervivencia de las semillas y la abundancia de las plántulas de las especies afectadas (Muller-Landau, 2007). En un bosque conservado los niveles de mortalidad inducidos por los mamíferos varían ampliamente entre especies de plantas y esta variación es clave para mantener el balance competitivo entre ellas (Wright, 2003). Cuando los herbívoros, que representan un importante componente de la variación ambiental que influencia el reclutamiento y la regeneración de la selva, son eliminados, algunas especies de plantas pueden llegar a dominar en la comunidad conduciendo a un empobrecimiento de la diversidad de especies (Kurten, 2013). En el capítulo III documenté que, efectivamente la ausencia de los mamíferos herbívoros provocó una disminución en la diversidad de la comunidad regenerativa (cuando se controla por la densidad de individuos). Como se predijo, la ausencia de los herbívoros favoreció desproporcionadamente la abundancia de unas especies de plantas. Con la pérdida de los herbívoros, los mecanismos denso-dependiente negativos que operan para hacer que las especies más frecuentes experimenten mayores reducciones y se generen comunidades más equitativas, disminuyen en importancia, resultando en una comunidad menos equitativa y menos diversa (Martínez-Ramos, 1991).

Una limitación de mi diseño experimental y de otros estudios que han utilizado exclusiones para impedir el acceso de la fauna terrestre, es que no se manipula la

dispersión primaria de semillas por animales arbóreos y voladores. En los bosques defaunados donde los primates y aves grandes también están ausentes, la probabilidad de que a un sitio lleguen semillas procedentes de la lluvia foránea (semillas diferentes a las del árbol parental) disminuye drásticamente (Holbrook & Loiselle, 2009; Peres & Palacios, 2007; Stoner et al., 2007). Por tanto, es probable que la acumulación de especies observada en las exclusiones experimentales en mi estudio sea producto de la actividad de los vertebrados del dosel y no una consecuencia de la ausencia de los mamíferos terrestres. Mis resultados ilustran los efectos de la pérdida de las interacciones que se producen una vez las semillas llegan al suelo de la selva, el escenario simulado completo de la defaunación requiere eliminar también las interacciones con los animales arborícolas.

En el capítulo IV exploré un mecanismo que podría ayudar a entender por qué unas especies de plantas se beneficiaron de la ausencia de los mamíferos herbívoros. De acuerdo con el modelo de depredación diferencial, que explora los efectos de la defaunación sobre los patrones de depredación de semillas en relación a su tamaño, los cambios que se observan en estos patrones se reflejan en la germinación y posterior reclutamiento de plantas (Dirzo et al., 2007). Por tanto, esperaba que si la remoción diferencial de semillas explica en parte los patrones de reclutamiento de plántulas, la proporción de semillas removidas debería variar entre tratamientos de exclusión. En particular, para las especies cuya densidad de plántulas aumentó en ausencia de los mamíferos terrestres, la remoción debería ser mayor en las parcelas testigo y menor cuando todos los mamíferos terrestres son excluidos. Esto indicaría que en ausencia de la fauna las semillas son poco removidas y en consecuencia, esto ayudaría a explicar el mayor reclutamiento de plántulas en las exclusiones. En el experimento de remoción de semillas encontré que tres de las ocho especies focales tienen atributos que las hacen atractivas a los mamíferos y por esto, probablemente fueron muy removidas. La frecuencia de remoción fue mayor para las semillas con alto contenido de reservas energéticas más valiosas (proteína, grasas) que para las semillas que tenían alto contenido de carbohidratos. Este resultado ilustra que aún dentro de un intervalo de tamaño de semilla restringido, hay alta variación en el resultado de la interacción semilla-granívoro. Semillas de tamaño similar no tuvieron el mismo destino en el suelo de la selva; por tanto, es necesario seguir refinando modelos como el de depredación diferencial para ganar mayor claridad sobre cuáles son las especies que serán afectadas positiva o negativamente por la defaunación.

Dentro de las especies que en el estado de plántula se beneficiaron de la ausencia de los mamíferos terrestres estuvieron *Ampelocera hottlei* y *Brosimum*

*alicastrum*. La densidad inicial de estas dos especies aumentó hasta dos veces en las exclusiones experimentales (Camargo-Sanabria et al., 2015); sin embargo, estas especies mostraron diferencias en sus patrones de remoción. Mientras *Ampelocera hottlei* fue más removida por los mamíferos terrestres *Brosimum alicastrum* no lo fue. Por tanto, es posible que la regulación que los mamíferos ejercen sobre estas especies de plantas se dé en etapas de desarrollo diferentes. En el caso de *B. alicastrum* la regulación parece ejercerse en el estadio de plántula a través del consumo de follaje y el pisoteo, pues su rápida germinación le permite escapar de los depredadores de semilla. El consumo dependiente de la frecuencia que caracteriza a los mamíferos herbívoros de mayor tamaño (Bergvall & Leimar, 2005) puede ser el responsable parcial de que especies como *B. alicastrum*, naturalmente abundante en la selva, mantengan abundancias tales para impedir que ocurra la exclusión competitiva de especies raras en la comunidad. Por el contrario, la regulación sobre *A. hottlei* parece ejercerse en la fase de semilla. Las semillas de *A. hottlei* presentaron atributos que se asociaron con su alta depredación por mamíferos. Cuando los mamíferos granívoros no están presentes, las semillas tienen mayor probabilidad de germinar, crecer y establecerse. Sin embargo, no debe descartarse que especies con atributos similares a *A. hottlei* puedan sufrir una depredación desproporcionadamente alta (y mucho menor reclutamiento), si las poblaciones de roedores resilientes al impacto humano aumentan notoriamente como resultado de la ausencia de sus competidores (mamíferos granívoros de mayor tamaño) y depredadores (Galetti et al., 2015). Concluyo que en un escenario de defaunación las trayectorias de especies aparentemente similares (por ej. tamaño de semilla, densidad poblacional) pueden variar ampliamente cuando se consideran otros atributos y distintas etapas de desarrollo.

## Perspectivas de investigación

Revisiones previas han enumerado una serie de recomendaciones a seguir en los estudios de defaunación (Galetti & Dirzo, 2013; Stoner et al., 2007; Wright, 2003). Aquí, más que adicionar otras sugerencias, expondré tres cuestionamientos que, a mi juicio, son fundamentales para avanzar en el entendimiento de las consecuencias de la defaunación.

Primero, se reconoce que mientras los efectos a corto plazo de la pérdida de los mamíferos herbívoros sobre las comunidades de plantas han sido ampliamente documentados, las implicaciones a largo plazo siguen siendo materia de especulación

(Muller-Landau, 2007). Además, hay cierta discrepancia con los estudios demográficos de algunas especies de plantas que han indicado que la dinámica poblacional es poco sensible a los cambios en el reclutamiento (Martínez-Ramos & Álvarez-Buylla, 1995). En otras palabras, el grado al cual los cambios en la comunidad regenerativa influyen la comunidad de plantas adultas en la siguiente generación es aún desconocido (Muller-Landau, 2007). Evidencia correlativa, obtenida en un bosque de Borneo, ha mostrado que la defaunación histórica de vertebrados produce cambios en la estructura espacial y dinámica de juveniles (Harrison et al., 2013). Sin embargo, evidencia en este sentido que abarque hasta el estado adulto es mucho más difícil de obtener. Recientemente, Caughlin et al. (2014) analizaron el impacto de la pérdida de dispersores sobre la viabilidad poblacional en una especie de árbol tropical dominante y encontraron que, cuando no hay dispersión, la distribución espacial resultó altamente agregada. Como consecuencia de esto, detectaron un incremento en la mortalidad denso-dependiente en todas las etapas de desarrollo, lo cual provocó una disminución poblacional y un aumento en la probabilidad de extinción a 100 años. Estudios como este en el que se modele el efecto de la pérdida de los mamíferos sobre las tasas reproductivas de distintos estados de desarrollo de un número apreciable de especies de plantas, permitirán determinar si los cambios en los mecanismos de denso-dependencia observados en las primeras etapas de desarrollo (cuando ocurren la mayoría de interacciones con los mamíferos) se mantienen y provocan cambios en la estructura de la comunidad arbórea. Debido a que hacerlo para todas las especies de plantas es logísticamente imposible, reitero la necesidad de definir grupos de especies con base en sus atributos morfológicos, funcionales o en la afiliación filogenética y seleccionar especies indicadoras para examinar su respuesta a la defaunación (Muller-Landau, 2007).

Segundo, los efectos indirectos de la defaunación sobre las comunidades de insectos han sido poco explorados. Wright (2003) predijo que si la densidad de plántulas aumenta en un bosque defaunado, la herbivoría por insectos aumentaría también. Cabe preguntarse si los invertebrados podrían compensar el daño por herbivoría que no hacen los mamíferos en un bosque defaunado. Un estudio pionero sobre las causas de mortalidad de plántulas de la selva húmeda tropical, detectó que, de un amplio espectro de factores bióticos causantes de mortalidad, los mamíferos fueron responsables del 7% al 29% de la mortalidad, mientras que los insectos provocaron entre un 12% y un 41% (Álvarez-Loayza & Terborgh, 2011). Diferencias del impacto de insectos vs. mamíferos se debieron probablemente a que las plántulas evaluadas coexistieron en agrupaciones monoespecíficas densas bajo el árbol

parental, lo que pudo atraer insectos altamente especialistas. Por el contrario, Coley & Barone (1996) afirman que si bien los mamíferos tienen un impacto limitado en términos del área foliar consumida, ellos pueden tener fuertes efectos demográficos sobre las comunidades de plantas a través del consumo de semillas y plántulas. En esta misma línea, Kurten (2013) destacó que, en el caso de la depredación de semillas, los invertebrados no compensaron la disminución de la depredación por vertebrados en los bosques defaunados. Considero que, para dilucidar esta controversia, se podría profundizar en los factores que determinan la herbivoría por insectos y mamíferos en los bosques tropicales. Algunas variables a considerar serían el contenido nutricional y los mecanismos de resistencia de las plantas, los mecanismos fisiológicos y comportamentales de respuesta de los animales a las defensas de las plantas, el papel de la vegetación local (protección por asociación) y la presencia de enemigos naturales de los herbívoros. Tener claridad sobre qué variables determinan el ataque por uno u otro grupo sería el marco de referencia para poner a prueba hipótesis más específicas sobre el fenómeno de la compensación.

Tercero, la efectividad de las áreas protegidas (AP's) como estrategia local, regional y global para conservar la biodiversidad (Gaston et al., 2008) se basa en el hecho de poder conservar poblaciones y comunidades funcionales para sostener la viabilidad de los ecosistemas a largo plazo (Parrish et al., 2003). Sin embargo, la mayoría de esfuerzos se han enfocado en el rol de las áreas protegidas para reducir amenazas muy evidentes como la deforestación (Andam et al., 2008; Blackman et al., 2015). Mucha menos atención se le ha prestado a los efectos de otras amenazas como la defaunación, que tienen, el potencial de afectar la integridad de los procesos ecológicos. Por ejemplo, una revisión sistemática encontró evidencia que demuestra que las AP's reducen la pérdida de hábitat, mas no que fueran efectivas para mantener poblaciones de diversas especies de animales (Geldmann et al., 2013). En efecto, hay ejemplos en donde las áreas protegidas han sido insuficientes para proteger las poblaciones de fauna y flora de amenazas crípticas como la cacería y la extracción (Craigie et al., 2010; Sreekar et al., 2015). Por tanto, en este escenario es recomendable combinar las evaluaciones convencionales de presencia/ausencia de especies y extensión de la cobertura arbórea en las AP's con estudios ecológicos de las interacciones bióticas. Boissier et al. (2014) proponen una metodología rápida para obtener información indicadora de la "salud" de los procesos ecológicos a partir del monitoreo de la actividad de los frugívoros y dispersores de semillas.

Paralelamente evaluaciones globales muestran que el estado de conservación fuera de los límites de las AP's tiende a empeorar con el tiempo (Geldmann et al.,

2013; Laurance et al., 2012). Aunque hay ejemplos que demuestran que la riqueza y composición de distintos ensamblajes de fauna se mantienen en paisajes modificados (Athreya et al., 2013; Garmendia et al., 2013), la cuestión es si los tamaños poblacionales son suficientes para mantener las interacciones bióticas o si por el contrario estamos enfrentando una futura deuda de extinción (Valiente-Banuet et al., 2015). En la Selva Lacandona, Zárate et al. (2014) concluyeron que las plantaciones de cacao proporcionaron los elementos necesarios para constituir un hábitat permanente, a largo plazo, para los monos aulladores y que estos animales fueron capaces de mantener su rol ecológico como dispersores de semillas (aunque de semillas significativamente más pequeñas que las observadas en la AP). Comparaciones similares para otros grupos de fauna son necesarias para determinar si el paisaje predominante, hoy en día, en el área que circunda las AP's está permitiendo mantener la integridad de los procesos ecológicos a la escala de paisaje.

Finalmente, es necesario recalcar que el desarrollo de las líneas de investigación delineadas aquí exige la implementación de estudios ecológicos a largo plazo en distintas áreas geográficas. Además, es fundamental integrar el trabajo de demógrafos de plantas con el de especialistas en fauna (ecólogos de la dispersión, de movimiento animal, etólogos, fisiólogos, entre otros) e incorporar herramientas tecnológicas a distintos niveles: desde técnicas para refinar el seguimiento de semillas dispersadas hasta modelos demográficos espacialmente explícitos que nos permitan tener capacidad predictiva sobre los impactos de la defaunación (Caughlin et al., 2014; Wang & Smith, 2002).

## LITERATURA CITADA (CAPÍTULOS I y V)

---

- Achard, F., Eva, H.D., Stibig, H.-J., Mayaux, P., Gallego, J., Richards, T., Malingreau, J.-P., 2002. Determination of deforestation rates of the world's humid tropical forests. *Science* (80.), 999–1002. doi:10.1126/science.1070656
- Alvarez-Loayza, P., Terborgh, J., 2011. Fates of seedling carpets in an Amazonian floodplain forest: intra-cohort competition or attack by enemies? *J. Ecol.* 99, 1045–1054. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01835.x
- Andam, K.S., Ferraro, P.J., Pfaff, A., Sanchez-Azofeifa, G.A., Robalino, J.A., 2008. Measuring the effectiveness of protected area networks in reducing deforestation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 16089–94. doi:10.1073/pnas.0800437105
- Asner, G.P., Rudel, T.K., Aide, T.M., Defries, R., Emerson, R., 2009. A contemporary assessment of change in humid tropical forests. *Conserv. Biol.* 23, 1386–95. doi:10.1111/j.1523-1739.2009.01333.x
- Asquith, N.M., Mejía-Chang, M., 2005. Mammals, edge effects, and the loss of tropical forest diversity. *Ecology* 86, 379–390. doi:10.1890/03-0575
- Asquith, N.M., Wright, S.J., Clauss, M.J., 1997. Does mammal community composition control recruitment in neotropical forest? Evidence from Panama. *Ecology* 78, 941–946.
- Athreya, V., Odden, M., Linnell, J.D.C., Krishnaswamy, J., Karanth, U., 2013. Big cats in our backyards: persistence of large carnivores in a human dominated landscape in India. *PLoS One* 8, 2–9. doi:10.1371/journal.pone.0057872
- Baldeck, C.A., et al., 2013. Habitat filtering across tree life stages in tropical forest communities. *Proc. Biol. Sci.* 280, 20130548. doi:10.1098/rspb.2013.0548
- Baraloto, C., Forget, P.M., Goldberg, D.E., 2005. Seed mass, seedling size and neotropical tree seedling establishment. *J. Ecol.* 93, 11156–1166.
- Beck, H., Snodgrass, J.W., Thebpanya, P., 2013. Long-term enclosure of large terrestrial vertebrates: Implications of defaunation for seedling demographics in the Amazon rainforest. *Biol. Conserv.* 163, 115–121. doi:dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2013.03.012
- Beckman, N.G., Muller-Landau, H.C., 2007. Differential effects of hunting on pre-dispersal seed predation and primary and secondary seed removal of two neotropical tree species. *Biotropica* 39, 328–339. doi:10.1111/j.1744-7429.2007.00273.x
- Bergvall, U.A., Leimar, O., 2005. Plant secondary compounds and the frequency of food types affect food choice by mammalian herbivores. *Ecology* 86, 2450–2460.



- Blackman, A., Pfaff, A., Robalino, J., 2015. Paper park performance: Mexico's natural protected areas in the 1990s. *Glob. Environ. Chang.* 31, 50–61. doi:10.1016/j.gloenvcha.2014.12.004
- Blate, G.M., Peart, D.R., Leighton, M., 1998. Post-dispersal predation on isolated seeds: a comparative study of 40 tree species in a Southeast Asian rainforest. *Oikos* 3, 522–538.
- Boissier, O., Bouiges, A., Mendoza, I., Feer, F., Forget, P.-M., 2014. Rapid assessment of seed removal and frugivore activity as a tool for monitoring the health status of tropical forests. *Biotropica* 46, 633–641. doi:10.1111/btp.12134
- Brewer, S.W., Rejmánek, M., 1999. Small rodents as significant dispersers of tree seeds in a Neotropical forest. *J. Veg. Sci.* 10, 165–174. doi:10.2307/3237138
- Brocardo, C.R., Zipparro, V.B., de Lima, R.A.F., Guevara, R., Galetti, M., 2013. No changes in seedling recruitment when terrestrial mammals are excluded in a partially defaunated Atlantic rainforest. *Biol. Conserv.* 163, 107–114. doi:dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2013.04.024
- Brodie, J.F., Helmy, O.E., Brockelman, W.Y., Maron, J.L., 2009. Bushmeat poaching reduces the seed dispersal and population growth rate of a mammal-dispersed tree. *Ecol. Appl.* 19, 854–863. doi:10.1890/08-0955.1
- Camargo-Sanabria, A.A., Mendoza, E., Guevara, R., Martínez-Ramos, M., Dirzo, R., 2015. Experimental defaunation of terrestrial mammalian herbivores alters tropical rainforest understorey diversity. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 282, 20142580. doi:10.1098/rspb.2014.2580
- Caughlin, T.T., Ferguson, J.M., Lichstein, J.W., Zuidema, P.A., Bunyavejchewin, S., Levey, D.J., 2014. Loss of animal seed dispersal increases extinction risk in a tropical tree species due to pervasive negative density dependence across life stages. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 282, 20142095–20142095. doi:10.1098/rspb.2014.2095
- Ceballos, G., Ehrlich, P.R., 2002. Mammal population losses and the extinction crisis. *Science* 296, 904–7. doi:10.1126/science.1069349
- Clark, C.J., Poulsen, J.R., Levey, D.J., 2012. Vertebrate herbivory impacts seedling recruitment more than niche partitioning or density-dependent mortality. *Ecology* 93, 554–64. doi:10.1890/11-0894.1
- Coley, P.D., Barone, J.A., 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27, 305–335.
- Craigie, I.D., Baillie, J.E.M., Balmford, A., Carbone, C., Collen, B., Green, R.E., Hutton, J.M., 2010. Large mammal population declines in Africa's protected areas. *Biol. Conserv.* 143, 2221–2228. doi:10.1016/j.biocon.2010.06.007

- Danell, K., Bergstrom, R., 2002. Mammalian herbivory in terrestrial environments, in: Herrera, C.M., Pellmyr, O. (Eds.), *Plant animal interactions: an evolutionary approach*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 107–131.
- Davidson, A.D., Hamilton, M.J., Boyer, A.G., Brown, J.H., Ceballos, G., 2009. Multiple ecological pathways to extinction in mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 10702–5. doi:10.1073/pnas.0901956106
- Di Marco, M., Boitani, L., Mallon, D., Hoffmann, M., Iacucci, A., Meijaard, E., Visconti, P., Schipper, J., Rondinini, C., 2014. A retrospective evaluation of the global decline of carnivores and ungulates. *Conserv. Biol.* 00, 1–12. doi:10.1111/cobi.12249
- Dirzo, R., 2001. Plant-mammal interactions: Lessons for our understanding of nature and implications for biodiversity conservation., in: Press, M. C., Huntly, N. J., & Levin, S. (Eds.), *Ecology: achievement and challenge: the 41st Symposium of the British Ecological Society*. Blackwell Science., Oxford, UK., pp. 319–335.
- Dirzo, R., Mendoza, E., Ortíz, P., 2007. Size related differential seed predation in a heavily defaunated neotropical rain forest. *Biotropica* 39, 355–362. doi:dx.doi.org/10.1111/j.1744-7429.2007.00274.x
- Dirzo, R., Miranda, A., 1991. Altered patterns of herbivory and diversity in the forest understory: A case study of the possible consequences of contemporary defaunation., in: Price, P.W., Lewinsohn, T.M., Fernandes, G.W., Benson, W.W. (Eds.), *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions*. John Wiley and Sons, New York, New York, pp. 273–287.
- Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J.B., Collen, B., 2014. Defaunation in the Anthropocene. *Science* (80-. ). 345, 401–406. doi:10.1126/science.1251817
- Fa, J.E., Brown, D., 2009. Impacts of hunting on mammals in African tropical moist forests: a review and synthesis. *Mamm. Rev.* 39, 231–264. doi:10.1111/j.1365-2907.2009.00149.x
- Fenner, M., 1983. Relationships between seed weight, ash content and seedling growth in twenty-four species of Compositae. *New Phytol.* 95, 697–706.
- Galetti, M., Bovendorp, R.S., Guevara, R., 2015. Defaunation of large mammals leads to an increase in seed predation in the Atlantic forests. *Glob. Ecol. Conserv.* 3, 824–830. doi:10.1016/j.gecco.2015.04.008
- Galetti, M., Dirzo, R., 2013. Ecological and evolutionary consequences of living in a defaunated world. *Biol. Conserv.* 163, 1–6. doi:dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2013.04.020
- Galetti, M., Donatti, C.I., Pires, A.S., Guimarães Jr, P.R., Jordano, P., 2006. Seed survival and dispersal of an endemic Atlantic forest palm: the combined effects of defaunation and

- forest fragmentation. *Bot. J. Linn. Soc.* 151, 141–149. doi:10.1111/j.1095-8339.2006.00529.x
- Garmendia, A., Arroyo-Rodriguez, V., Estrada, A., Naranjo, E., Stoner, K.E., 2013. Landscape and patch attributes impacting medium- and large-sized terrestrial mammals in a fragmented rain forest. *J. Trop. Ecol.* 39, 331–344. doi:dx.doi.org/10.1017/S0266467413000370
- Gaston, K.J., Jackson, S., Cantú-Salazar, L., Cruz-Piñón, G., 2008. the ecological performance of protected areas. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 39, 93–113. doi:10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173529
- Geldmann, J., Barnes, M., Coad, L., Craigie, I.D., Hockings, M., Burgess, N.D., 2013. Effectiveness of terrestrial protected areas in reducing habitat loss and population declines. *Biol. Conserv.* 161, 230–238. doi:10.1016/j.biocon.2013.02.018
- Giacomini, H.C., Galetti, M., 2013. An index for defaunation. *Biol. Conserv.* 163, 33–41. doi:10.1016/j.biocon.2013.04.007
- Grubb, P.J., 1998. Seeds and fruits of tropical rainforest plants: interpretation of the range in seed size, degree of defence and flesh/seed quotients., in: Newbery, D. M., Prins, H. H. T., & Brown, N. D. (Eds.) *Dynamics of tropical communities: the 37th symposium of the British Ecological Society*, Cambridge University. Blackwell Science Ltd., pp. 1-24.
- Guimarães, P.R., José, J., Galetti, M., Trigo, J.R., 2003. Quinolizidine alkaloids in *Ormosia arborea* seeds inhibit predation but not hoarding by agoutis (*Dasyprocta leporina*). *J. Chem. Ecol.* 29, 1065–72.
- Harrison, R.D., Tan, S., Plotkin, J.B., Slik, F., Detto, M., Brenes, T., Itoh, A., Davies, S.J., 2013. Consequences of defaunation for a tropical tree community. *Ecol. Lett.* 16, 687–694. doi:dx.doi.org/10.1111/ele.12102
- Hoffmann, M., Belant, J.L., Chanson, J.S., Cox, N.A., Lamoreux, J., Rodrigues, A.S.L., Schipper, J., Stuart, S.N., 2011. The changing fates of the world's mammals. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 366, 2598–610. doi:10.1098/rstb.2011.0116
- Holbrook, K.M., Loiselle, B.A., 2009. Dispersal in a neotropical tree, *Virola flexuosa* (Myristicaceae): Does hunting of large vertebrates limit seed removal? *Ecology* 90, 1449–1455. doi:10.1890/08-1332.1
- Hulme, P.E., Benkman, C.W., 2002. Granivory, in: Herrera, C.M., Pellmyr, O. (Eds.), *Plant-Animal Interactions: An Evolutionary Approach*. Blackwell Science., USA, pp. 132–154.
- Ibarra-Manríquez, G., Cornejo-Tenorio, G., 2010. Diversidad de frutos de los árboles del bosque tropical perennifolio de México. *Acta Botánica Mex.* 90, 51–104.

- Ickes, K., Dewalt, S.J., Appanah, S., 2001. Effects of native pigs (*Sus scrofa*) on woody understorey vegetation in a Malaysian lowland rain forest. *J. Trop. Ecol.* 17, 191–206. doi:10.1017/S0266467401001134
- Jansen, P.A., Forget, P.-M., 2001. Scatterhoarding rodents and tree regeneration, in: Bongers, et al. (Ed.), *Dynamics and plant-animal interactions in a neotropical rainforest*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 275–288.
- Jerozolimski, A., Peres, C.A., 2003. Bringing home the biggest bacon : a cross-site analysis of the structure of hunter-kill profiles in Neotropical forests. *Biol. Conserv.* 111, 415–425.
- Kurten, E.L., 2013. Cascading effects of contemporaneous defaunation on tropical forest communities. *Biol. Conserv.* 163, 22–32. doi:dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2013.04.025
- Kurten, E.L., Carson, W.P., 2015. Do Ground-Dwelling Vertebrates Promote Diversity in a Neotropical Forest? Results from a Long-Term Enclosure Experiment. *Bioscience* 65, 862–870. doi:10.1093/biosci/biv110
- Laurance, W.F., et al., 2012. Averting biodiversity collapse in tropical forest protected areas. *Nature*. doi:10.1038/nature11318
- Lebrija-Trejos, E., Pérez-García, E.A, Meave, J.A, Bongers, F., Poorter, L., 2010. Functional traits and environmental filtering drive community assembly in a species-rich tropical system. *Ecology* 91, 386–98.
- Leishman, M.R., Wright, I.J., Moles, A.T., Westoby, M., 2000. The evolutionary ecology of seed size, in: Fenner, M. (Ed.), *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*, CAB International, pp. 31-57.
- Martínez-Ramos, M., 1991. *Patrones, procesos y mecanismos en la comunidad de plántulas de una selva húmeda neotropical*. Tesis doctoral, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Martínez-Ramos, M., Soto-Castro, A., 1993. Seed rain and advanced regeneration in a tropical rain forest. *Vegetatio* 107/108, 299–318.
- Martinez-Ramos, M., Alvares-Buylla, E., 1995. Ecología de poblaciones de plantas en una selva húmeda de México. *Boletín de la Soc. Botánica México* 56, 121–153.
- McConkey, K.R., O’Farrill, G., 2015. Cryptic function loss in animal populations. *Trends Ecol. Evol.* 30, 182–189. doi:10.1016/j.tree.2015.01.006
- Muller-Landau, H.C., 2007. Predicting the long-term effects of hunting on plant species composition and diversity in tropical forests. *Biotropica* 39, 372–384. doi:dx.doi.org/10.1111/j.1744-7429.2007.00290.x

- Paine, C.E.T., Beck, H., 2007. Seed predation by neotropical rain forest mammals increases diversity in seedling recruitment. *Ecology* 88, 3076–3087. doi:<http://dx.doi.org/10.1890/06-1835.1>
- Paine, C.E.T., Harms, K.E., Schnitzer, S.A., Carson, W.P., 2008. Weak competition among tropical tree seedlings: implications for species coexistence. *Biotropica* 40, 432–440. doi:[10.1111/j.1744-7429.2007.00390.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2007.00390.x)
- Paine, C.E.T., Norden, N., Chave, J., Forget, P.-M., Fortunel, C., Dexter, K.G., Baraloto, C., 2012. Phylogenetic density dependence and environmental filtering predict seedling mortality in a tropical forest. *Ecol. Lett.* 15, 34–41. doi:[10.1111/j.1461-0248.2011.01705.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01705.x)
- Parrish, J.D., Braun, D.P., Unnasch, R.S., 2003. Are we conserving what we say we are? measuring ecological integrity within protected areas. *Bioscience* 53, 851. doi:[10.1641/0006-3568\(2003\)053\[0851:AWCWWS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0851:AWCWWS]2.0.CO;2)
- Peres, C.A., Barlow, J., Laurance, W.F., 2006. Detecting anthropogenic disturbance in tropical forests. *Trends Ecol. Evol.* 21, 227–9. doi:[10.1016/j.tree.2006.03.007](https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.03.007)
- Peres, C.A., 2001. Synergistic effects of subsistence hunting and habitat fragmentation on amazonian forest vertebrates. *Conserv. Biol.* 15, 1490–1505.
- Peres, C.A., 2000. Effects of subsistence hunting on vertebrate community structure in amazonian forests. *Conserv. Biol.* 14, 240–253.
- Peres, C.A., Palacios, E., 2007. Basin-wide effects of game harvest on vertebrate population densities in Amazonian forests: implications for animal-mediated seed dispersal. *Biotropica* 39, 304–315. doi:[dx.doi.org/10.1111/j.1744-7429.2007.00272.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2007.00272.x)
- Peres, C.A., van Roosmalen, M., 2002. Primate frugivory in two species-rich neotropical forests: implications for the demography of large-seeded plants in overhunted areas, in: Levey, D.J., Silva, W.R., Galetti, M. (Eds.), *Seed dispersal frugivory Ecology Evolution and Conservation* CABI Publ. Wallingford, pp. 407–421.
- Redford, K.H., 1992. The empty forest. *Bioscience* 42, 412–422. doi:<http://dx.doi.org/10.2307/1311860>
- Ripple, W.J., et al., 2015. Collapse of the world's largest herbivores. *Sci. Adv.* 1, e1400103–e1400103. doi:[10.1126/sciadv.1400103](https://doi.org/10.1126/sciadv.1400103)
- Roldán, A.I., Simonetti, J.A., 2001. Plant-mammal interactions in tropical Bolivian forests with different hunting pressures. *Conserv. Biol.* 15, 617–623. doi:[10.1046/j.1523-1739.2001.015003617.x](https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2001.015003617.x)

- Royo, A.A., Carson, W.P., 2005. The herb community of a tropical forest in central Panamá: dynamics and impact of mammalian herbivores. *Oecologia* 145, 66–75. doi:10.1007/s00442-005-0079-3
- Soriano, D., Orozco-Segovia, A., Marquez-Guzman, J., Kitajima, K., Gamboa-de Buen, A., Huante, P., 2011. Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Ann. Bot.* 107, 939–951. doi:10.1093/aob/mcr041
- Sreekar, R., Zhang, K., Xu, J., Harrison, R.D., 2015. Yet another empty forest: considering the conservation value of a recently established tropical nature reserve. *PLoS One* 10, e0117920. doi:10.1371/journal.pone.0117920
- Stoner, K.E., Vulinec, K., Wright, S.J., Peres, C.A., 2007. Hunting and plant community dynamics in tropical forests: a synthesis and future directions. *Biotropica* 39, 385–392. doi:10.1111/j.1744-7429.2007.00291.x
- Terborgh, J., Nuñez-Iturri, G., Pitman, N.C.A., Valverde, F.H.C., Alvarez, P., Swamy, V., Pringle, E.G., Paine, C.E.T., 2008. Tree recruitment in an empty forest. *Ecology* 89, 1757–1768. doi:dx.doi.org/10.1890/07-0479.1
- Terborgh, J., Wright, S.J., 1994. Effects of mammalian herbivores on plant recruitment in two neotropical forests. *Ecology* 75, 1829–1833. doi:10.2307/1939641
- Theimer, T.C., Gehring, C.A., Green, P.T., Connell, J.H., 2011. Terrestrial vertebrates alter seedling composition and richness but not diversity in an Australian tropical rain forest. *Ecology* 92, 1637–1647. doi:dx.doi.org/10.1890/10-2231.1
- Tobler, M.W., Janovec, J.P., Cornejo, F., 2010. frugivory and seed dispersal by the lowland tapir *Tapirus terrestris* in the Peruvian Amazon. *Biotropica* 42, 215–222. doi:10.1111/j.1744-7429.2009.00549.x
- Traveset, A., 1998. Effect of seed passage through vertebrate frugivores' guts on germination: a review. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 1/2, 151–190.
- Valiente-Banuet, A., et al., 2015. Beyond species loss: the extinction of ecological interactions in a changing world. *Funct. Ecol.* 29, 299–307. doi:10.1111/1365-2435.12356
- Vander Wall, S.B., 2010. How plants manipulate the scatter-hoarding behaviour of seed-dispersing animals. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 365, 989–97. doi:10.1098/rstb.2009.0205
- Wang, B., Chen, J., 2011. Scatter-hoarding rodents prefer slightly astringent food. *PLoS One* 6. doi:10.1371/journal.pone.0026424
- Wang, B.C., Smith, T.B., 2002. Closing the seed dispersal loop. *Trends Ecol. Evol.* 17, 379–386. doi:10.1016/S0169-5347(02)02541-7

- Wang, B.C., Sork, V.L., Leong, M.T., Smith, T.B., 2007. Hunting of mammals reduces seed removal and dispersal of the afro-tropical tree *Antrocaryon klaineianum* (Anacardiaceae). *Biotropica* 39, 340–347. doi:10.1111/j.1744-7429.2007.00275.x
- Wright, S.J., 2010. The future of tropical forests. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1195, 1–27. doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05455.x
- Wright, S.J., 2003. The myriad consequences of hunting for vertebrates and plants in tropical forests. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 6, 73–86. doi:http://dx.doi.org/10.1078/1433-8319-00043
- Wright, S.J., Duber, H.C., 2001. Poachers and forest fragmentation alter seed dispersal, seed survival, and seedling recruitment in the palm *Attalea butyraceae*, with implications for tropical tree diversity. *Biotropica* 33, 583–595. doi:10.1111/j.1744-7429.2001.tb00217.x
- Wright, S.J., Muller-Landau, H.C., 2006. The future of tropical forest. *Species* 38, 287–301.
- Wright, S.J., Zeballos, H., Domínguez, I., Gallardo, M.M., Moreno, M.C., Ibáñez, R., 2000. Poachers alter mammal abundance, seed dispersal, and seed predation in a neotropical forest. *Conserv. Biol.* 14, 227–239. doi:10.1046/j.1523-1739.2000.98333.x
- Xiao, Z., Chang, G., Zhang, Z., 2008. Testing the high-tannin hypothesis with scatter-hoarding rodents: experimental and field evidence. *Anim. Behav.* 75, 1235–1241. doi:10.1016/j.anbehav.2007.08.017
- Young, H.S., Dirzo, R., Helgen, K.M., McCauley, D.J., Billeter, S.A., Kosoy, M.Y., Osikowicz, L.M., Salkeld, D.J., Young, T.P., Dittmar, K., 2014. Declines in large wildlife increase landscape-level prevalence of rodent-borne disease in Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 7036–41. doi:10.1073/pnas.1404958111
- Zárate, D.A., Andresen, E., Estrada, A., Serio-silva, J.C., 2014. Black howler monkey (*Alouatta pigra*) activity, foraging and seed dispersal patterns in shaded cocoa plantations versus rainforest in southern Mexico. *Am. J. Primatol.* 76, 890–899. doi:10.1002/ajp.22276
- Zhang, H., Zhang, Z., 2008. Endocarp thickness affects seed removal speed by small rodents in a warm-temperate broad-leaved deciduous forest, China. *Acta Oecologica* 34, 285–293. doi:10.1016/j.actao.2008.06.001