



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales

Nicho isotópico de *Dromiciops gliroides* y su comparación histórica en el sur de Chile

Patrocinante: Sr. Roberto Nespolo

Trabajo de Tesina presentado como parte de
los requisitos para optar al Título de
Ingeniero en Conservación de Recursos Naturales

JUAN PABLO BRAVO SALAZAR

VALDIVIA-CHILE

2025

i	CALIFICACIÓN DEL COMITÉ DE TITULACIÓN	i
ii	AGRADECIMIENTOS	ii
iii	RESUMEN	iii
1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Características de <i>Dromiciops gliroides</i> : el habitante arbóreo del bosque templado lluvioso de Sudamérica.	1
1.2	Uso de isótopos estables en ecología	1
1.3	Nicho y su importancia en estudios ecológicos	3
1.4	Análisis y estadísticas	4
1.5	Pregunta de investigación	6
1.6	Hipótesis	5
1.7	Objetivo general	7
1.8	Objetivos específicos	7
2.	MÉTODOS	8
2.1	Área de estudio	8
2.2	Análisis de isótopos estables	10
2.3	Análisis estadístico de isótopos estables	11
3.	RESULTADOS	14
4.	DISCUSIÓN	20
4.1	Cambios en la amplitud del nicho isotópico	20
4.2	Variación local y trófica en Valdivia y Chiloé	20
4.3	Fragmentación y alteración del hábitat	21
4.4	Evaluación estadística y consistencia con la hipótesis	21
4.5	Interpretación isotópica de la dieta	22
4.6	Limitaciones futuras y proyecciones	23
5.	CONCLUSIÓN	23
6.	REFERENCIAS	25
7.	ANEXOS	30
	1. Tabla de posición trófica por individuo	30

CALIFICACIÓN DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

		Nota
Patrocinante:	Sr. Roberto Nespolo	<u>6,8</u>
Informante:	Sr. Paulo Corti	<u>6,7</u>
Informante:	Sr. Iván Díaz	<u>6,6</u>

El Patrocinante acredita que el presente Trabajo de Titulación cumple con los requisitos de contenido y de forma contemplados en el Reglamento de Titulación de la Escuela. Del mismo modo, acredita que en el presente documento han sido consideradas las sugerencias y modificaciones propuestas por los demás integrantes del Comité de Titulación.



Sr. Roberto Nespolo

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi profesor guía, Roberto Nespolo, por su apoyo y orientación a lo largo de este proceso. Su guía fue significativa e imprescindible para el desarrollo y finalización de este trabajo de titulación, además de brindarme la oportunidad de adentrarme en el mundo de la ciencia, algo que valoro profundamente.

Extiendo también mis agradecimientos al equipo del Laboratorio de Ecofisiología Animal por el constante apoyo, las risas compartidas y el ánimo entregado en cada etapa de este camino. A Isidora, por su disposición inagotable y el apoyo necesario en este proceso de la vida, y a Julián, por su ayuda en mis primeros pasos en el laboratorio y en el manejo de la gran cantidad de información que supuso este desafío. Sin la ayuda, compañía y generosidad de cada uno de ustedes, este trabajo no habría sido posible. Asimismo, agradezco al Proyecto FONDECYT Regular 1221073, que hizo posible la realización de esta investigación.

A mi padre y madre, quienes me han acompañado siempre, incluso a la distancia, desde que me vine a vivir a Valdivia para cumplir el sueño de convertirme en profesional. Este cambio de vida, desde la capital a la región sur, no fue sencillo, pero con su apoyo incondicional he podido avanzar, crecer y cumplir mis metas poco a poco.

También quiero agradecer a mis amigos de toda la vida y de la carrera, por sus palabras de aliento, por darme ánimos en cada etapa. Finalmente, a mi pareja, gracias por acompañarme, escucharme y sostenerme con cariño durante todo este tiempo.

A cada uno de ustedes les debo este logro, que no es solo personal, sino también fruto de la compañía, el cariño y el apoyo recibido en este camino.

RESUMEN

Este estudio analiza la variación temporal en la amplitud del nicho isotópico de *Dromiciops gliroides*, un marsupial relictivo del orden Microbiotheria, entre la década de 1980 y la actualidad (2019–2021) en el sur de Chile. Conocido como “monito del monte” y considerado un fósil viviente, *D. gliroides* se distribuye desde los bosques mediterráneos del Maule hasta los bosques templado-lluviosos de Chiloé. Su dieta es predominantemente frugívora, aunque complementada con insectos según la disponibilidad estacional.

Para evaluar cómo ha variado su nicho trófico, se empleó el análisis de isótopos estables (AIE) de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$), ampliamente utilizados para inferir dietas y posiciones tróficas en animales. Los isótopos permiten representar la amplitud del nicho como elipses (SEA), facilitando la comparación de especialización trófica en distintos contextos temporales y espaciales. En este trabajo, se analizaron muestras de pelo de *D. gliroides* provenientes de localidades de Valdivia y Chiloé, procesadas mediante espectrometría de masas. Asimismo, se utilizaron modelos de mezcla isotópica (SIAR) y análisis de modelos mixtos para estimar las contribuciones relativas de diferentes fuentes alimenticias.

Los resultados muestran que la amplitud del nicho isotópico fue mayor en los años 80 que en la actualidad, tanto en Valdivia como en Chiloé. En esta última localidad se observó además un enriquecimiento en $\delta^{15}\text{N}$ en el periodo actual, lo que sugiere un mayor consumo de presas de nivel trófico superior, posiblemente asociado a la fragmentación progresiva del hábitat. En Valdivia, en cambio, se evidenció una dieta más insectívora, reducida pero estable, reflejada en valores consistentes de nitrógeno a lo largo del tiempo. Estos hallazgos indican que, en contraste con la hipótesis del generalísimo trófico en ambientes fragmentados, *D. gliroides* ha reducido su diversidad dietaria en el tiempo, lo que podría comprometer su resiliencia ecológica frente a escenarios de cambio ambiental.

Palabras claves: *Dromiciops*, isótopos, AIE, nicho ecológico.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Uso de isótopos estables en ecología.

Históricamente, para el estudio de los flujos energéticos en los organismos y su relación con diferentes características ecológicas (i.e., riqueza y distribución de especies), se ha abordado mediante una variedad de métodos que incluyen tanto parámetros ecológicos (como el esfuerzo reproductivo y estrategias de historia de vida) como fisiológicos, entre los que destacan la evaluación de las tasas metabólicas de diversas especies. En este último caso, la tasa metabólica basal (TMB) ha sido especialmente relevante, ya que corresponde a la mínima cantidad de energía necesaria para mantener a un individuo en reposo dentro de la zona termoneutral de la especie (McNab 1997); y es frecuentemente utilizada como un indicador del presupuesto energético en animales endotermos (Bozinovic y Rosenmann 2004, Nespolo *et al.* 2021, Camus *et al.* 2025 en prensa).

No obstante, en las últimas décadas ha emergido un enfoque alternativo y cada vez más influyente en ecología: el análisis de isótopos estables (AIE). A diferencia de otros métodos, el AIE ofrece una herramienta poderosa para determinar la composición de la dieta de los organismos en distintas escalas temporales y describir los flujos de energía y la estructura de las tramas tróficas (Tieszen *et al.* 1983). En estudios de recursos tróficos de animales, los isótopos más utilizados son el nitrógeno ^{15}N y el carbono ^{13}C . La interpretación de estos isótopos se basa en la premisa de que los valores isotópicos en los tejidos de los consumidores reflejan directamente la dieta, incrementándose de manera lineal con los valores isotópicos de los alimentos consumidos (Jackson *et al.* 2011).

En particular, los valores isotópicos de nitrógeno ^{15}N son utilizados como indicadores del nivel trófico de los individuos dentro de las tramas tróficas, ya que este isótopo tiende a acumularse en aproximadamente 3,4‰ en promedio entre la dieta y los tejidos del consumidor (Post 2002). Por otro lado, los valores isotópicos de carbono ^{13}C aumentan solo en aproximadamente 1‰ por nivel trófico, lo que permite identificar las fuentes originales de carbono en la dieta y representar las variaciones en la base de la red trófica (Mateo *et al.* 2004).

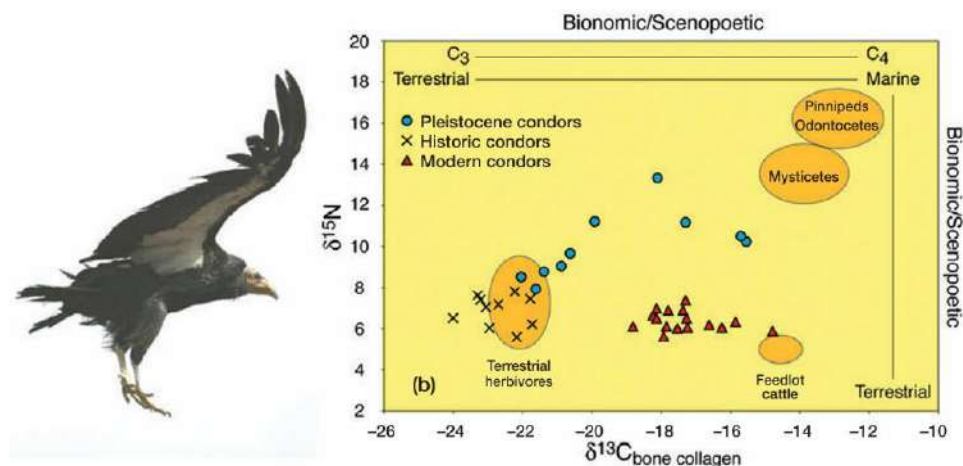


Figura 1. Nicho isotópico de Cóndores para tres periodos históricos diferentes (Newsome *et al.* 2007).

En el estudio realizado por Newsome *et al.* (2007), se analizó y extrajo colágeno del plumaje de cóndores que se encontraban en estado de conservación en un museo, con el fin de establecer su nicho isotópico. Los datos indican que los cóndores del Pleistoceno tienen una mayor diversidad isotópica en comparación con los cóndores históricos y modernos, sugiriendo que tenían una dieta más variada que incluía tanto presas terrestres como marinas. Los cóndores históricos muestran una mayor asociación con herbívoros terrestres, mientras que los cóndores modernos están más estrechamente asociados con el ganado de engorde.

1.2 Nicho y su importancia en estudios ecológicos.

El concepto de nicho ecológico es esencial para los ecólogos, ya que les permite abordar una variedad de tópicos importantes, como el uso eficiente de los recursos, la diversidad geográfica y diversos aspectos de la composición y estructura de las comunidades biológicas (McGill *et al.* 2006). En este contexto, la ecología isotópica ha avanzado significativamente al representar sus datos en espacios multivariados, utilizando coordenadas que capturan información tanto bionómica como escenótica. Este enfoque de "espacio" es análogo al espacio n-dimensional que los ecólogos utilizan para definir el nicho ecológico, ya que la composición química de un organismo está influenciada directamente por su dieta (bionómica) y por el entorno en el que vive (escenótica) (Newsome *et al.* 2007).

El uso del AIE de carbono en estudios ecológicos y paleoecológicos sobre el flujo de energía se ha vuelto cada vez más común (Tieszen *et al.* 1983). Estos proporcionan información sobre el alimento asimilado en diferentes escalas temporales que van desde horas a décadas, dependiendo del tejido analizado, los tejidos duros (como el pelo) acumulan información sobre la dieta durante un largo periodo,

probablemente varias semanas y meses (Galetti *et al.* 2016). Esta metodología es particularmente valiosa porque las plantas que utilizan las rutas fotosintéticas C3, C4 y CAM tienen relaciones isotópicas de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ claramente diferenciados debido al fraccionamiento isotópico durante la fotosíntesis (Mateo *et al.* 2004). Un ejemplo de la aplicación exitosa de este método es el estudio realizado por Ribeiro (2015), el cual investigó los hábitos locomotores de pequeños mamíferos y marsupiales en Brasil y cómo estos hábitos influyen en la explotación de los recursos alimenticios. Los resultados de este estudio fueron significativos, mostrando que las especies con mayor capacidad para explorar diferentes ambientes, como los roedores, exhibieron una menor diversidad trófica y una mayor selectividad en todas las formaciones y épocas del año. El acceso a los estratos superiores del bosque también afectó la dieta de los pequeños mamíferos: aquellos que permanecían en el suelo tendían a ser más frugívoros, mientras que los que se desplazaban por los estratos arbóreos eran más insectívoros. Además, los ambientes con una vegetación más compleja presentaron comunidades con una mayor diversidad trófica.

Galetti *et al.* (2016) realizaron un estudio que utiliza la técnica de isótopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) para investigar el nicho trófico de roedores y marsupiales en el bosque Atlántico, permitiendo inferir las fuentes de alimento asimiladas por estas especies a lo largo del tiempo. Los resultados muestran que los roedores presentan un amplio espacio de nicho isotópico, ocupando diferentes niveles tróficos y alimentándose de diversas fuentes de carbono (C3 y C4), reflejando una gran diversidad dietética. Por otro lado, los marsupiales exhiben un nicho isotópico más restringido y parcialmente solapado con el de los roedores, lo que desafía su clasificación como omnívoros (Santori *et al.* 2012). La utilización de isótopos estables ha sido fundamental para detectar estas diferencias en la estructura de nichos que, además, están relacionadas con hábitos locomotores y uso vertical del hábitat, en lugar del tamaño corporal. Esta metodología brinda una visión integrada y de amplio alcance sobre las relaciones alimentarias en comunidades de pequeños mamíferos, siendo especialmente valiosa en entornos donde las técnicas tradicionales presentan limitaciones.

La importancia de describir el nicho isotópico para *Dromiciops* spp. radica en la capacidad de este enfoque para proporcionar una comprensión profunda de sus hábitos alimenticios y las variaciones tróficas en función del tiempo y el espacio. Estudios recientes han demostrado la efectividad del análisis de isótopos estables en otra especie de marsupial que habita en Chile. Un ejemplo relevante es el trabajo realizado en *Thylamys elegans* (conocida comúnmente como “yaca”) por Pavez (2016). Este estudio reveló diferencias significativas en los valores isotópicos de nitrógeno entre individuos capturados en diferentes estaciones del año. Específicamente, los individuos capturados en otoño mostraron valores

más altos de $\delta^{15}\text{N}$ en comparación con aquellos capturados en primavera, lo que sugiere una variación estacional en la dieta, con un mayor consumo de presas enriquecidas en nitrógeno, como los insectos adultos, durante el otoño.

Luego, el estudio de Walsh y Tucker (2020) sobre la zarigüeya de Virginia (*Didelphis virginiana*) ofrece un marco teórico y metodológico de gran relevancia para la presente investigación en *D. gliroides*. Este trabajo se centra en una extensión de la hipótesis de la heterogeneidad del hábitat de MacArthur para una única especie de marsupial generalista, proponiendo que los paisajes más heterogéneos deberían dar lugar a nichos isotópicos más amplios. La investigación utiliza valores de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) para evaluar cómo el uso que hace la zarigüeya de su entorno varía en distintas regiones geográficas. Los resultados demuestran una relación positiva y significativa entre la diversidad del uso del suelo y la amplitud del nicho isotópico. Esto confirma que la firma isotópica de un animal generalista refleja su entorno local, lo que permite capturar la flexibilidad de su dieta con los isótopos estables.

Este tipo de evidencias apoya la teoría del generalismo trófico (Walsh *et al.* 2020), la cual postula que especies con dietas flexibles poseen mayor capacidad para adaptarse a entornos cambiantes. No obstante, también plantea interrogantes sobre posibles reducciones en la diversidad dietaria cuando los recursos disponibles se homogenizan, como ocurre en ambientes perturbados.

Finalmente, Negrete *et al.* (2017) realizó un análisis de isótopos estables de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en plumas y sangre de pingüinos pygoscelídeos (*Pygoscelis papua*, *Pygoscelis adélie* y *Pygoscelis chinstrap*) en la Isla Ardley (-62°.214585, -58°.935121) en la Antártica, para investigar cambios en sus nichos ecológicos a lo largo del tiempo. La comparación entre muestras de la década de 1980 y las obtenidas entre 2009 y 2011 revela una tendencia general de desplazamiento hacia una mayor dependencia de krill y una reducción en la ingestión de presas de niveles tróficos superiores, como peces y calamares. Además, se observó una disminución del ancho del nicho isotópico en los pingüinos papua (*P. papua*), indicando menor variabilidad en sus estrategias de forrajeo recientes, en contraste con las especies adélie y chinstrap, que mantienen nichos similares a los de hace varias décadas. A partir de lo anterior, se destaca el uso de isótopos que permite detectar cambios temporales en las estrategias alimentarias y en la distribución espacial de los pingüinos, reflejando la influencia de alteraciones ambientales, como la reducción de hielo marino y recursos en la Región Antártica.

Este hallazgo resalta la utilidad del análisis de isótopos estables para investigar las dietas de mamíferos de pequeño tamaño como *Dromiciops*. La capacidad de detectar cambios en la dieta a lo largo del tiempo y entre diferentes localidades geográficas permitiendo una comprensión más detallada de la ecología trófica de la especie. Además, la inclusión de un gran número de muestras de diferentes poblaciones en un estudio isotópico proporciona una oportunidad única para examinar las variaciones tanto geográficas como temporales en la dieta de *Dromiciops*, y cómo estas variaciones pueden estar influenciadas por la disponibilidad de alimentos a lo largo de los años.

1.3 Análisis y estadísticas

El análisis de isótopos estables no solo ofrece una herramienta poderosa para la investigación de la ecología trófica, sino que también puede proporcionar información crucial para la conservación y manejo de especies en ecosistemas diversos y dinámicos. Dado que *Dromiciops spp.* habita en una variedad de ambientes a lo largo de Chile, desde los ecosistemas mediterráneos hasta los bosques templados lluviosos, el estudio de su nicho isotópico en el tiempo puede revelar cómo esta especie responde a diferentes condiciones ambientales y cómo utiliza los recursos disponibles en su hábitat.

A diferencia de las aproximaciones más simples, estos modelos, al basarse en el Teorema de Bayes, no ofrecen una única solución, sino una distribución de probabilidad que permite cuantificar de manera explícita la incertidumbre en la estimación de la dieta. Esto es crucial para comprender la flexibilidad trófica de *D. gliroides*. Para ello, los BIMM combinan datos isotópicos del consumidor y de las fuentes de alimento potenciales, junto con los factores de discriminación trófica. Utilizando algoritmos de Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), el modelo simula la distribución posterior de las contribuciones de las fuentes, permitiendo obtener rangos de probabilidad y no solo valores puntuales.

Más allá de las dietas, la amplitud del nicho isotópico puede caracterizarse mediante métricas basadas en la dispersión en el espacio bi-variado ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$). El concepto de nicho isotópico asocia el eje $\delta^{13}\text{C}$ con la fuente de carbono o tipo de hábitat alimentario, y el $\delta^{15}\text{N}$ con el nivel trófico.

1.4 Características de *Dromiciops gliroides*: el habitante arbóreo del bosque templado lluvioso de Sudamérica.

El marsupial arbóreo “monito del monte” (*Dromiciops gliroides* Thomas, 1894), relicto del orden Microbiotheria, representa un linaje de origen Gondwánico y es considerado un “fósil viviente” por ser el único representante vivo del orden Microbiotheria (Martín 2018, 2019), que antiguamente incluyó más

de veinte especies actualmente extintas (Goin 2013, Quintero *et al.* 2021, Feng *et al.* 2022). Este orden corresponde al linaje ancestral de los marsupiales australianos, representante de los primeros marsupiales que poblaron Sudamérica, lo que le otorga gran relevancia evolutiva. El nombre común “monito del monte” hace referencia a sus hábitos arbóreos y a su morfología, caracterizada por pulgares oponibles y cola prensil, rasgos que lo asemejan a un pequeño primate (Fontúrbel *et al.* 2022).

En Chile, su distribución se extiende por el norte desde la región del Maule (35°S), donde predominan ecosistemas mediterráneos, hasta la provincia de Palena e isla de Chiloé en la región de Los Lagos por el sur (44°S), áreas caracterizadas por bosques templados lluviosos (D’Elia *et al.* 2016, Nespolo *et al.* 2019, Mejías *et al.* 2021, Quintero-Galvis *et al.* 2022). Además, en Argentina se encuentra en localidades como Puerto Blest y Llaollao, que comparten una composición florística similar con el Parque Nacional Puyehue. Dentro de su hábitat, el bosque templado se distingue por la presencia de especies leñosas del género *Nothofagus* y una abundante cobertura de quila (*Chusquea quila*, Kunth), la cual es utilizada por la especie para construir sus nidos (Fontúrbel *et al.* 2022).

Los hábitos alimenticios de *Dromiciops* son predominantemente frugívoros durante la primavera y el verano, época en la que cumple un papel clave como dispersor de semillas (Amico *et al.* 2009). Sin embargo, presenta un comportamiento trófico oportunista, consumiendo insectos y frutas según su disponibilidad estacional (Celis-Díez *et al.* 2012). Esta flexibilidad dietaria le permite adaptarse a las fluctuaciones en la oferta de recursos, constituyendo un rasgo central de su ecología trófica y que justifica su clasificación como generalista (Cortés *et al.* 2011, Fontúrbel *et al.* 2022). Durante el invierno, enfrenta condiciones ambientales adversas mediante la hibernación, estrategia que le permite sobrellevar períodos de baja disponibilidad alimenticia (Celis-Díez *et al.* 2012).

Por lo anterior, radica la importancia de este estudio en el análisis de isótopos estables que se presenta como una herramienta poderosa para indagar en la ecología trófica de *Dromiciops gliroides*, permitiendo caracterizar su nicho isotópico a través del tiempo y el espacio. Considerando la distribución amplia de esta especie en el sur de Chile, así como los distintos grados de intervención y conservación de sus hábitats, resulta pertinente explorar cómo han variado sus patrones alimentarios en respuesta a estos cambios ambientales. Particularmente, la fragmentación del bosque y las transformaciones en el uso del suelo podrían haber influido en la disponibilidad y diversidad de recursos tróficos, afectando la amplitud de su nicho isotópico, lo que pone a prueba su caracterización como generalista. En este contexto, surge la siguiente pregunta de investigación;

1.5 Pregunta de investigación

¿Cómo ha variado la amplitud del nicho isotópico de *Dromiciops gliroides* en el tiempo (desde los años 80's hasta la actualidad años 20's) en las localidades de Valdivia y Chiloé?

1.6 Hipótesis

La amplitud de nicho isotópico será de mayor tamaño en la localidad de Chiloé debido a la fragmentación del hábitat y la mayor variedad de alimentos disponibles (aumentando la generalización). Paralelamente, en Valdivia se mantendrá la amplitud del nicho isotópico debido a la conservación del bosque en el tiempo (manteniendo la especialización).

1.7 Objetivo general

Evaluar cómo ha variado la amplitud del nicho isotópico de *Dromiciops gliroides* en relación con su dieta omnívora a lo largo del tiempo (desde los años 80' hasta la actualidad años 20's) en las localidades de Valdivia y Chiloé.

1.8 Objetivos específicos

1. Estimar la amplitud del nicho isotópico de *D. gliroides* entre las localidades de Valdivia y Chiloé para las escalas temporales seleccionadas (desde los años 80' hasta la actualidad 20's).
2. Evaluar los cambios temporales en la dieta de *D. gliroides* (proporciones de insectos y frutos) y su relación con la amplitud del nicho isotópico en ambas localidades.
3. Relacionar las variaciones en la amplitud del nicho isotópico y la dieta de *D. gliroides* con los patrones de fragmentación del hábitat y los cambios en el uso del suelo a lo largo del tiempo.

2. MÉTODOS

2.1 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en dos localidades del sur de Chile: Valdivia, en la Región de Los Ríos, y Chiloé, Ancud en la Región de Los Lagos. Ambas áreas forman parte de la ecorregión de los bosques templados lluviosos del sur de Sudamérica, reconocidos por su alta biodiversidad y su importancia ecológica (Urbina *et al.* 2015).

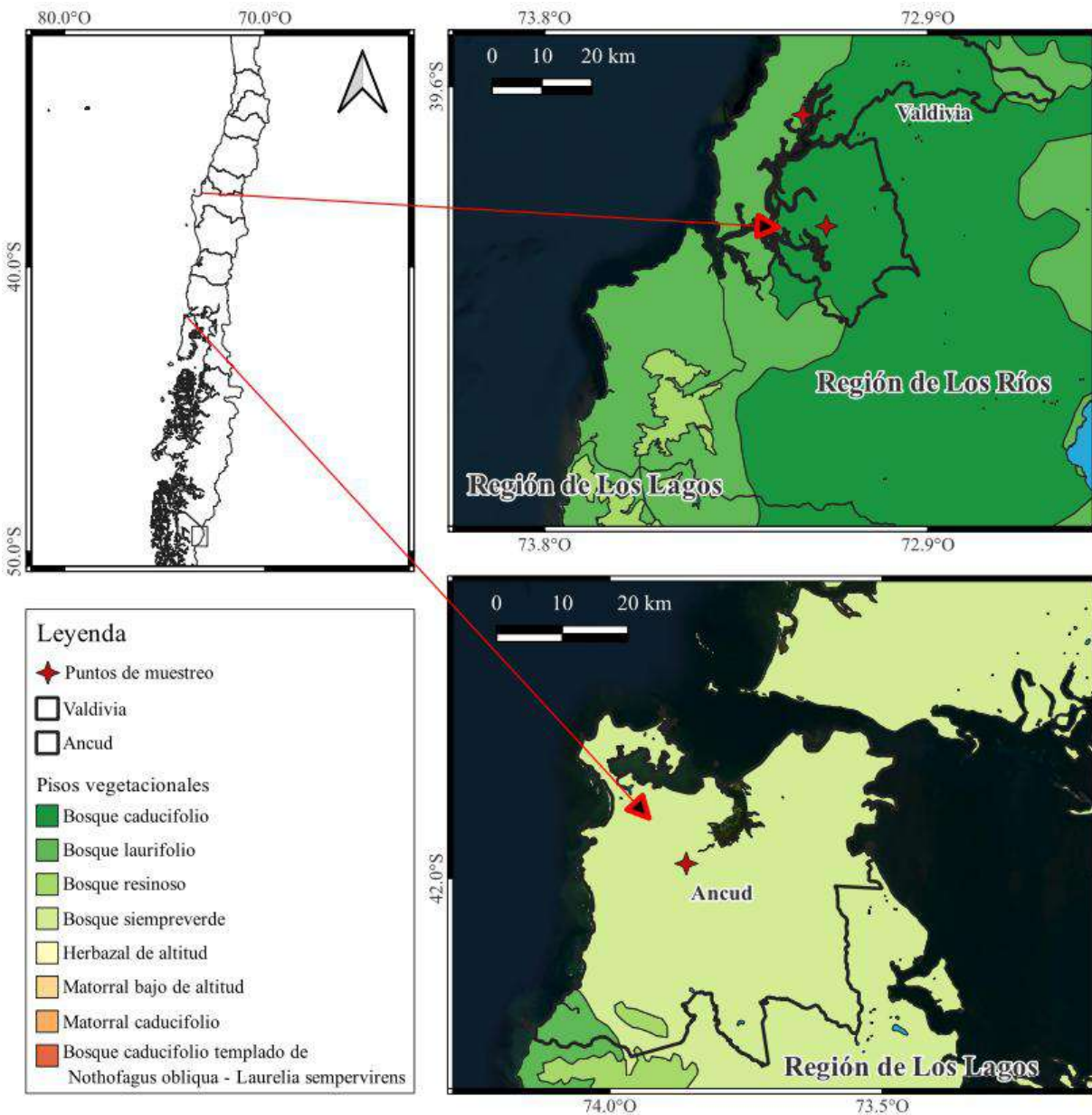


Figura 2. Representación cartográfica de los sitios de estudios ubicados en la Región de Los Ríos y Los Lagos respectivamente.

Estos bosques albergan una gran variedad de especies endémicas y desempeñan un papel crucial en la conservación de los ecosistemas templados del continente, siendo considerados uno de los *hotspots* de biodiversidad más importantes del planeta (Arroyo *et al.* 2004).

En la localidad de Valdivia, se seleccionaron dos puntos clave para la recolección de muestras. El primero es la Estación Experimental Bosque San Martín (en adelante “BSM”) (39° 38’S y 73° 11’W), dependiente de la Universidad Austral de Chile. Esta reserva, que abarca 330 hectáreas, se encuentra al noroeste de Valdivia, entre San José de la Mariquina y Mehuin, y representa un relicto de bosque templado-lluvioso conocido como “selva valdiviana”. Este tipo de bosque constituye una transición entre los bosques de *Nothofagus obliqua* (Mirb. Oerst), *Persea lingue* (Niemeyer *et al.*) y *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) de la depresión central y los bosques siempreverdes de la ladera oriental de la cordillera de La Costa de Valdivia (González *et al.* 1999). El BSM es un sitio de gran valor ecológico, ya que conserva características prístinas de la selva valdiviana, con una alta diversidad de especies arbóreas, epífitas y fauna asociada (Murúa *et al.* 2005).

El segundo punto de muestreo fue en el Santuario de la Naturaleza Llancahue, un predio de 1.270 hectáreas que pertenece a Bienes Nacionales. Este fundo está cubierto en un 80% por bosque nativo del tipo forestal Siempreverde, similar al encontrado en el BSM, con subtipos que incluyen bosques de intolerantes emergentes, siempreverdes tolerantes y renovales de canelo. Entre las especies arbóreas más abundantes se encuentran *Nothofagus dombeyi* (Mirb. Oerst.), *Laureliopsis philippiana* (Looser Schodde), *Aextoxicon punctatum* (Ruiz & Pav.), *Gevuina avellana* (Molina) y *Saxegothea conspicua* (Lindl.). La regeneración del bosque está dominada por *Aextoxicon punctatum* y *Laureliopsis philippiana*, con presencia de *Eucryphia cordifolia* (Cav 1798) en algunos sectores, mientras que el sotobosque se caracteriza por especies de mirtáceas como la *Amomyrtus luma* (Molina. D. Legrand & Kausel 1947), *Myrceugenia planipes* (hook & arn.) y *Luma apiculata* (DC. Burret). Además, destaca la presencia de epífitas y enredaderas, como *Lapageria rosea* (Ruiz & Pavon) y *Voquila trifoliata* (DC. Decne.). El Santuario de la Naturaleza Llancahue constituye uno de los últimos relictos del tipo forestal siempreverde en las cercanías de Valdivia, lo que lo convierte en un sitio de gran valor ecológico y de conservación (Aguilar 2018).

Ambos sitios poseen un clima templado lluvioso, con precipitaciones distribuidas a lo largo del año y una temperatura promedio anual de 11 °C. Las temperaturas mínimas medias alcanzan los 8 °C en julio, mientras que las precipitaciones promedio anuales rondan los 2.415 mm. Aunque no existen meses

completamente secos, las lluvias se concentran principalmente en invierno, lo que contribuye a la alta humedad y al desarrollo de bosques siempreverdes densos y estratificados (González *et al.* 1999).

Finalmente, en la Isla Grande de Chiloé, el estudio se centrará en áreas representativas del archipiélago, ubicado en la Región de Los Lagos. Chiloé es conocido por su clima oceánico templado, con altas precipitaciones (2.000-2.500 mm anuales) y temperaturas moderadas (promedio anual de 10 °C) con un período más seco (aproximadamente un 11 % de la precipitación anual) durante enero y febrero (Di Castri *et al.* 1976). La isla Grande de Chiloé, la más extensa del archipiélago, alberga bosques templados lluviosos con una composición florística única, donde destacan especies como *Fitzroya cupressoides* (Molina. I.M. Johnst.), *Pilgerodendron uviferum* (D. Don. Florin) y *Nothofagus nítida* (Phil. Krasser). Estos bosques se caracterizan por su alta humedad, suelos ácidos y una densa capa de musgos y helechos que cubren el suelo forestal (Jaña *et al.* 200).

2.2 Análisis de isótopos estables

Para este estudio, se utilizaron muestras de pelo de *D. gliroides* obtenidas de la Colección de Micromamíferos de la Universidad Austral de Chile (UACH), considerada la más grande y completa del país. Esta colección alberga especímenes recolectados a lo largo de varias décadas, con muestras que datan de los años 1970 hasta la actualidad, las cuales han sido preservadas bajo condiciones óptimas de temperatura y humedad controlada, garantizando su integridad para análisis isotópicos. Las muestras seleccionadas provienen de diversas poblaciones distribuidas a lo largo del rango geográfico de *Dromiciops spp.*, con énfasis en las localidades de Valdivia y Chiloé, abarcando un gradiente temporal que permite comparaciones históricas. Adicionalmente, para establecer la línea base isotópica, se recolectaron muestras de los principales componentes de la dieta de *D. gliroides* (frutos e insectos) en el BSM, asegurando así la representatividad ecológica de los recursos tróficos disponibles en su hábitat.

Las muestras fueron procesadas para determinar sus valores isotópicos de ^{13}C y ^{15}N . Estos isótopos estables son ideales para la reconstrucción de la dieta y la identificación de las posiciones tróficas, ya que el ^{13}C : permite identificar la fuente de carbono en la dieta de los consumidores, diferenciando entre plantas que realizan la fotosíntesis C3, C4 y CAM, y proporciona información sobre la base de la red trófica (Mateo *et al.* 2004). Es especialmente útil para determinar el origen de la energía en los ecosistemas donde habita *D. gliroides*. Así como, el ^{15}N sirve como indicador del nivel trófico de los individuos, reflejando la acumulación de nitrógeno a través de la cadena alimentaria. Esta información

es crucial para comprender la posición de *D. gliroides* en las ramas tróficas y su rol ecológico en distintos ambientes.

Todas las muestras de tejidos y alimentos fueron sometidas a un riguroso proceso de preparación antes del análisis isotópico. Inicialmente, las muestras fueron deshidratadas en horno a 40°C para eliminar completamente la humedad residual. Posteriormente, se procedió a su homogeneización mediante cortes y pulverización, garantizando una granulometría uniforme para el análisis. Las muestras así preparadas fueron enviadas al Laboratorio de Isótopos Estables de la Universidad de Antofagasta, donde se determinaron las relaciones isotópicas de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) y nitrógeno ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) mediante espectrometría de masas de relación isotópica acoplada a sistema de flujo continuo (IRMS).

Para las muestras de pelo, el protocolo incluyó una limpieza inicial con solventes orgánicos (éter: metanol 2:1) para eliminar contaminantes superficiales, seguida de secado y posterior pulverización. Las muestras limpias y homogeneizadas fueron cuidadosamente encapsuladas en crisoles de estaño para su combustión en el analizador elemental acoplado al espectrómetro de masas.

2.3 Análisis estadístico de isótopos estables

Los resultados se expresaron en notación delta (δ) y se comunicaron como desviaciones en partes por mil (‰) en relación con los patrones internacionales, por lo que los resultados se expresan en la razón isotópica de la muestra en comparación con la razón isotópica del estándar (formula 1). Para la calibración se utilizaron estándares internacionales (VPDB para carbono y aire atmosférico para nitrógeno), con una precisión analítica menor a 0.1‰ para ambos elementos (Squeo *et al.* 2004). Este procedimiento garantiza la comparabilidad de los resultados con estudios similares y permite una interpretación robusta de las señales isotópicas.

$$\delta^{13}\text{C} \text{ (o } \delta^{15}\text{N)} = \left(\frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estándar}}} - 1 \right) \times 1000 \quad [1]$$

Se mide la proporción entre dos isótopos de un mismo elemento en una muestra. En este caso para el carbono, se midió la proporción entre el isótopo pesado (^{13}C) y el isótopo ligero (^{12}C). Para el nitrógeno, se midió la proporción entre ^{15}N y ^{14}N . Los valores obtenidos ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) suelen ser negativos porque la mayoría de las muestras biológicas tienen una proporción de isótopos pesados menor que la del estándar, resultando en una razón menor a uno y, por lo tanto, un valor negativo cuando se aplica la fórmula.

En el presente estudio se utilizó el análisis de $\delta^{15}\text{N}$ como herramienta para inferir la posición trófica de *D. gliroides*, fundamentado en los trabajos pioneros de DeNiro y Epstein (1981), quienes demostraron que el $\delta^{15}\text{N}$ de los tejidos animales refleja el de la dieta con un enriquecimiento sistemático aproximado de +3‰. Posteriormente, Post (2002) consolidó esta evidencia a partir de múltiples estudios de campo y laboratorio, estableciendo que dicho enriquecimiento es consistente en un rango de 3–4‰ (media $\approx 3.4\text{‰} \pm 1\text{‰}$) y proponiendo una ecuación práctica para la estimación de la posición trófica (formula 2). Esta base conceptual justifica el uso del $\delta^{15}\text{N}$ en esta tesis como indicador confiable para comparar cambios en la dieta y amplitud del nicho isotópico de la especie en distintos contextos temporales y espaciales.

$$\text{PT.} = \lambda + \frac{(\delta^{15}\text{N}_{\text{consumidor}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{base}})}{\Delta_n} \quad [2]$$

Para analizar la amplitud del nicho isotópico (nicho trófico) de *D. gliroides* entre ambas épocas temporales, se usaron cuatro métricas de nicho (Layman *et al.* 2007); 1) rango de carbono (CR) el cual es, la diferencia entre el valor máximo y mínimo de $\delta^{13}\text{C}$ para cada época, y representa la diversidad de presas que consume el depredador, en el sentido de presas de distintos hábitats, 2) rango de nitrógeno (NR), es la diferencia entre el valor máximo y mínimo de $\delta^{15}\text{N}$ para cada época, y representa el nivel trófico de presas consumidas por el depredador, 3) polígonos convexos o área total (TA), TA analiza los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en un δ -espacio, y es una medida directa de la amplitud de nicho trófico, y una aproximación a la diversidad de presas que consume cada especie, finalmente 4) el área estándar de la elipse (SEA) que representa el área núcleo del nicho isotópico de cada especie (Jackson *et al.* 2011), el cual fue corregido para tamaños de muestra pequeños (SEAc; Jackson y Britton 2014). Finalmente, se comparó el grado de sobreposición de los nichos isotópicos (SEAc) entre los individuos del presente y el pasado.

Para el análisis de los datos isotópicos se emplearon dos paquetes complementarios de R especializados en ecología trófica: SIBER (Stable Isotope Bayesian Ellipses in R) y SIAR (Stable Isotope Analysis in R). El paquete SIBER permite caracterizar y comparar nichos isotópicos mediante el enfoque de los Modelos Bayesianos de Mezcla Isotópica (BIMM), este modelo combina los datos de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) de consumidores y sus posibles presas para estimar la composición dietaria. Cada presa se caracteriza por su firma isotópica media (y su variabilidad), ajustada por el factor de discriminación trófica (enriquecimiento isotópico entre nivel trófico). El consumidor se modela como mezcla lineal de estas fuentes (línea base), incorporando explícitamente la incertidumbre

en las firmas fuente y la discriminación. En este marco bayesiano se obtienen distribuciones posteriores de las proporciones de dieta de cada fuente, resumidas por su media e intervalos de credibilidad.

Por otro lado, el paquete SIAR utiliza modelos de mezcla bayesianos para estimar las proporciones de diferentes fuentes alimenticias en la dieta de los consumidores. Este enfoque permite incorporar la variabilidad natural de las fuentes, ajustar los factores de fraccionamiento isotópico según los requerimientos del estudio y cuantificar las incertidumbres asociadas a las mediciones isotópicas (Newsome *et al.* 2007). La combinación de ambos paquetes brinda un marco analítico integral, que va desde la estimación de las contribuciones dietéticas específicas (SIAR) hasta la evaluación de patrones espaciales en el nicho isotópico (SIBER), proporcionando así una visión completa de la ecología trófica de las especies estudiadas (R Core Team 2023, Jackson 2011).

Esta metodología resulta particularmente útil para estudios como el presente, donde se busca comprender los cambios temporales en la amplitud del nicho isotópico y las preferencias dietéticas de *D. gliroides* en respuesta a alteraciones ambientales. La implementación de modelos bayesianos (95%) garantiza que los resultados no solo sean robustos estadísticamente (remuestreo de 10.000 iteraciones), sino que también reflejen adecuadamente la variabilidad natural y los errores asociados a las mediciones isotópicas (Negrete *et al.* 2017).

A través de este enfoque, se evaluó cómo varía la dieta y el uso del hábitat de *D. gliroides* en función de las distintas condiciones ambientales y ecológicas presentes a lo largo de su rango de distribución. Este análisis integrador proporcionará una comprensión profunda de la ecología trófica de la especie, facilitando la identificación de patrones de variabilidad ecológica que pueden ser cruciales para la conservación y gestión efectiva de sus poblaciones en los diferentes ecosistemas donde se encuentra.

3. RESULTADOS

A partir de 48 muestras colectadas entre 1985 y 2021 y su respectiva línea base, compuesta de 21 insectos y 27 frutos que potencialmente podrían ser parte de su alimentación en el ambiente natural (Vázquez 2023). Se realizó un análisis de isótopos estables utilizando muestras de pelo de 43 individuos distribuidos en la localidad de Valdivia y Chiloé para las épocas temporales de los 80' y en la actualidad.

El cuadro 1 muestra los valores isotópicos promedio de los individuos en ambas localidades y en las dos épocas. Los valores isotópicos de nitrógeno y carbono variaron significativamente entre ambas épocas. En Valdivia, el valor medio actual (4.9 ‰) es ligeramente superior al pasado (4.7 ‰), con menos variabilidad en la actualidad (D.E. 0.5 vs. 1.8 ‰). Por otro lado, en Chiloé, la media actual (5.8 ‰) es notablemente más alta que la pasada (4.9 ‰), aunque ambas épocas presentan una variabilidad similar (D.E. \approx 1.5–1.6 ‰).

Cuadro 1. Valores medios y variabilidad (desviación estándar, D.E.) de los isótopos de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en muestras de *D. gliroides*. de dos localidades (Valdivia y Chiloé) y dos épocas (Actual vs. Pasada).

Localidad	Época	n	$\delta^{15}\text{N}$		$\delta^{13}\text{C}$	
			Media	D.E.	Media	D.E.
Valdivia	Actual	18	4.9	0.5	-24.4	0.2
	Pasada	14	4.7	1.8	-24.5	0.9
Chiloé	Actual	6	5.8	1.6	-24.3	0.3
	Pasada	5	4.9	1.5	-24.0	0.5

El cuadro 2 muestra el tamaño relativo de CR, NR, TA, SEA_C y SEA_B (\pm IC). El rango de nitrógeno no varió entre épocas, no obstante, el rango de carbono fue mayor en el presente. La superposición del nicho isotópico para Valdivia entre ambas épocas fue del 100%, conteniendo una dentro de otra, en el caso de Chiloé fue del 99.4%. Finalmente, el análisis de las SEA_B mostró que, tanto en Valdivia como en Chiloé, se observa una tendencia a la reducción del nicho trófico de *D. gliroides* en la actualidad en comparación con los años 80. Esta diferencia es estadísticamente significativa en Valdivia ($p < 0.001$) y moderada pero no significativa en Chiloé ($p \approx 0.069$) representado en los cuadros 3 y 4.

Cuadro 2. Métricas de amplitud de nicho isotópico de los individuos de *D. gliroides* obtenidos en dos épocas temporales en el sur de Chile. IC corresponde al intervalo de confianza del SEA_B .

Localidad	Época	n	NR	CR	TA	SEA_C	SEA_B	
							IC 95%(‰ ²)	Mediana
Valdivia	Actual	18	1.75	0.64	0.84	0.37	$\sim 0 - 1.12$	$\sim 0.5 - 0.7$
	Pasada	14	6.55	2.50	8.03	4.44	$\sim 0 - 12.79$	$\sim 6 - 8$
Chiloé	Actual	6	4.09	0.82	0.76	0.74	$\sim 0 - 8.36$	$\sim 2 - 4$
	Pasada	5	3.92	1.42	2.66	3.39	$\sim 0 - 23.24$	$\sim 8 - 12$

De acuerdo con lo señalado en el apartado 3.3 (fig. 4), la posición trófica fue calculada de manera individual para cada muestra (ver anexo 1). En términos poblacionales, el 81% de los individuos se ubicó en una posición trófica de 2, lo que corresponde a 35 de los 43 ejemplares analizados, mientras que sólo 8 individuos alcanzaron una posición trófica de 3.

La tabla 3, que representa un Anova de dos vías para el isótopo del carbono ($\delta^{13}\text{C}$), la “década” tiene un $p = 0.182$, lo cual no es estadísticamente significativo ($p > 0.05$). Esto sugiere que el factor “década” no tiene un efecto significativo sobre la variable dependiente (carbono). El factor “localidad”, también no significativo ($p = 0.238$). No se detecta diferencia significativa entre comunidades respecto a los valores de carbono. La interacción “década:localidad” $p = 0.568$ tampoco es significativa. Por lo anterior es que no hay evidencia de que la combinación de grupo y comunidad tenga un efecto conjunto sobre la variable. Finalmente, el “error” representa la variabilidad no explicada por el modelo, en este caso es bastante alta en comparación con los efectos, lo que sugiere que gran parte de la variación permanece sin explicar.

Cuadro 3. Tabla de Anova de dos vías para el isótopo del carbono ($\delta^{13}\text{C}$). El primer término (DF) indica los grados de libertad asociados a cada factor, el segundo (SC) representa la cantidad total de variabilidad explicada por cada efecto, el tercero (MC) indica el coeficiente entre la suma de cuadrados y los grados de libertad (F-value), finalmente (Pr) es el valor p, que indica la probabilidad de obtener un F-valor igual o mayor al observado.

Factor	DF (G.L.)	SC	MC	FP	Pr(>F)
Década	1	0.80	0.80	1.82	0.18
Localidad	1	0.63	0.63	1.42	0.24
Década:Localidad	1	0.15	0.15	0.33	0.57
Error	65	2.87	0.44		

La tabla 4, que muestra un Anova de dos vías para el isótopo del nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$), el primer factor “década” con un $F = 16.71$ y $p = 0.000122$, indica que es altamente significativo ($p < 0.001$), esto indica que este factor (por ejemplo, "Frut" vs "Insect") tiene un efecto significativo sobre los valores de $\delta^{15}\text{N}$. El factor “localidad” tiene un $F = 16.70$ y $p = 0.000122$, también altamente significativo ($p < 0.001$), por lo tanto, la comunidad (por ejemplo, localidades como Valdivia vs Chiloé) también tiene un efecto significativo sobre $\delta^{15}\text{N}$. La interacción “década:localidad” tiene un $F = 13.98$ y $p = 0.000393$, nuevamente altamente significativo, lo que indica que la combinación entre década y localidad tiene un efecto interactivo importante, es decir, el efecto del grupo depende de la comunidad en la que se

encuentre. Finalmente, el “error” representa la variación no explicada por los factores anteriores. Aunque es relativamente alta, los factores principales explican una cantidad importante de la varianza total ($SC = 58 + 58 + 48.5 = 164.6$, vs residuales 225.8), lo cual indica un modelo explicativo bastante informativo

Cuadro 4. Tabla de Anova de dos vías (análisis de varianza) para el isótopo del nitrógeno ($\delta^{15}N$). Al igual que el cuadro anterior, los términos indican lo mencionado anteriormente. Sin embargo, los datos de en esta tabla representan un efecto interactivo entre las variables.

Factor	DF (G.L.)	SC	MC	FP	Pr(>F)
Década	1	58.04	58.04	16.71	0.00012
Localidad	1	58.02	58.02	16.70	0.00012
Década:Localidad	1	48.55	48.55	13.98	0.00039
Error	65	225.78	3.47		

A continuación, se presenta en la figura 3.A la gráfica de las elipses del nicho isotópico (SEAc) para las dos épocas y en ambas localidades (Valdivia, Chiloé). La elipse roja corresponde a los valores actuales (Valdivia 20’s y Chiloé 20’s), esta representa una porción significativamente menor ($\delta^{15}N$: 4‰ – 6‰, y $\delta^{13}C$: -23.8‰ a -25‰; $\delta^{15}N$: 2‰ – 9.7‰, y $\delta^{13}C$: -24.5‰ a -25.2‰, respectivamente), en contraste la elipse negra corresponde al pasado (Valdivia 80’s, Chiloé 80’s), es mucho más amplia ($\delta^{15}N$: 2‰ – 8.3‰, y $\delta^{13}C$: -22.4‰ a -26.6‰; $\delta^{15}N$: 1‰ a 8.6‰, y $\delta^{13}C$: -22.7‰ a -25.4‰, respectivamente).

La figura 3B presenta gráficos de "HDR boxplot" (Highest Density Region boxplot) de las áreas de cada elipse SEAc, proveniente de un análisis bayesiano a posteriori denominado las cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), que se ejecuta para generar miles de muestras de la distribución posterior (10.000 iteraciones) de cada métrica del nicho isotópico que se está calculando. Los diferentes tonos de color gris anidadas dentro del HDR boxplot representa intervalos de credibilidad sucesivos (en este caso, el 50%, 75%, 95% de la región de mayor densidad) de la distribución posterior.

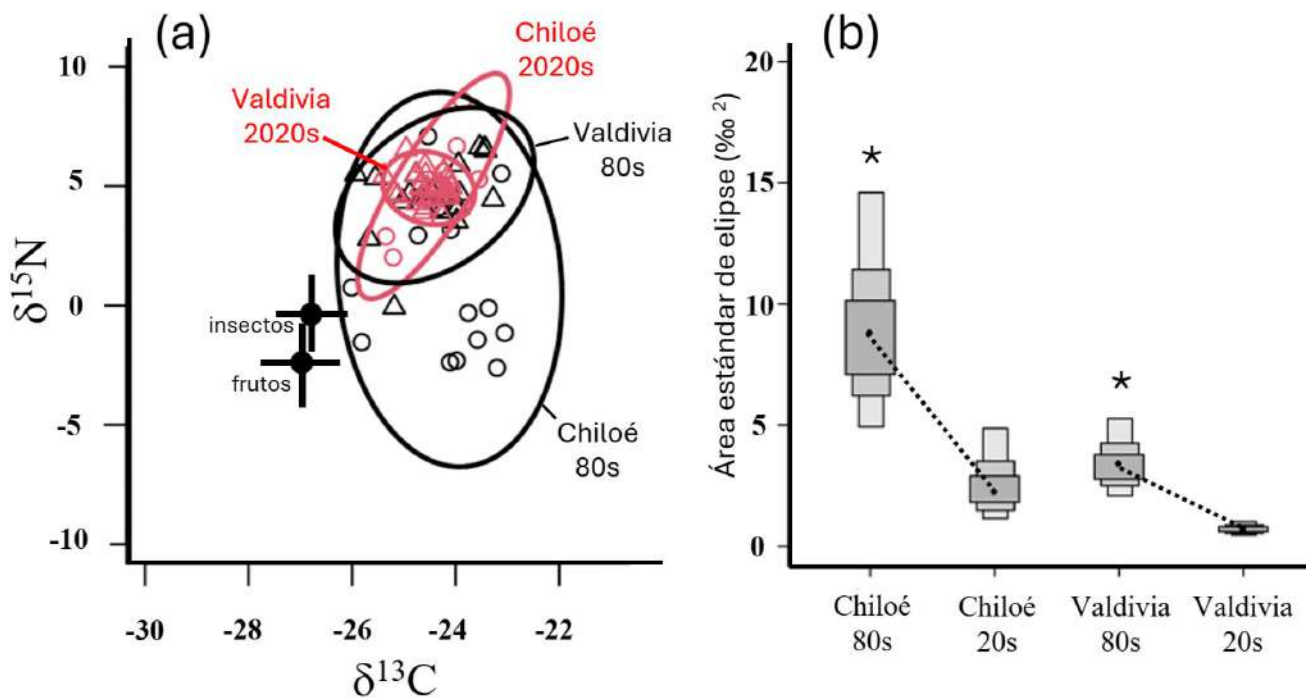


Figura 3. Gráfico de valores isotópicos de *Dromiciops gliroides* para la ciudad de Valdivia y Chiloé (A). En color negro (Valdivia 20's y Chiloé 20's) se encuentran los individuos que corresponden la época actual en los años 2019 - 2021 y en color rojo (Valdivia 80's, Chiloé 80's) las especies correspondientes al pasado entre los años 1985 – 1986. Además, las figuras triangulares y circulares son la diferenciación entre épocas, siendo los primeros los correspondientes a la época actual y los círculos representan a la época del pasado. En el gráfico HDR boxplot (B) representa las amplitudes de las elipses presentes en la figura 3 'A'. El símbolo '*' es la diferencia significativa entre décadas dentro de cada localidad (prueba U de Mann-Whitney, $p < 0,001$). Prueba basada en 10.000 valores simulados por grupo a partir de distribuciones log-normales ajustadas a la mediana y percentiles del 95%.

La figura 6 presenta un conjunto de métricas clave para caracterizar el nicho isotópico de *D. gliroides* en las localidades de estudio. Se incluyen: (1) los rangos de $\delta^{13}\text{C}$ (δx -range) y $\delta^{15}\text{N}$ (δy -range), que reflejan la amplitud de recursos utilizados en cada dimensión isotópica; (2) el área total de la elipse, como indicador de la amplitud total del nicho trófico; y (3) la distancia al vecino más cercano, que cuantifica la diferenciación entre comunidades isotópicas. Estas variables permiten evaluar comparativamente la plasticidad trófica de la especie frente a cambios ambientales temporales y espaciales.

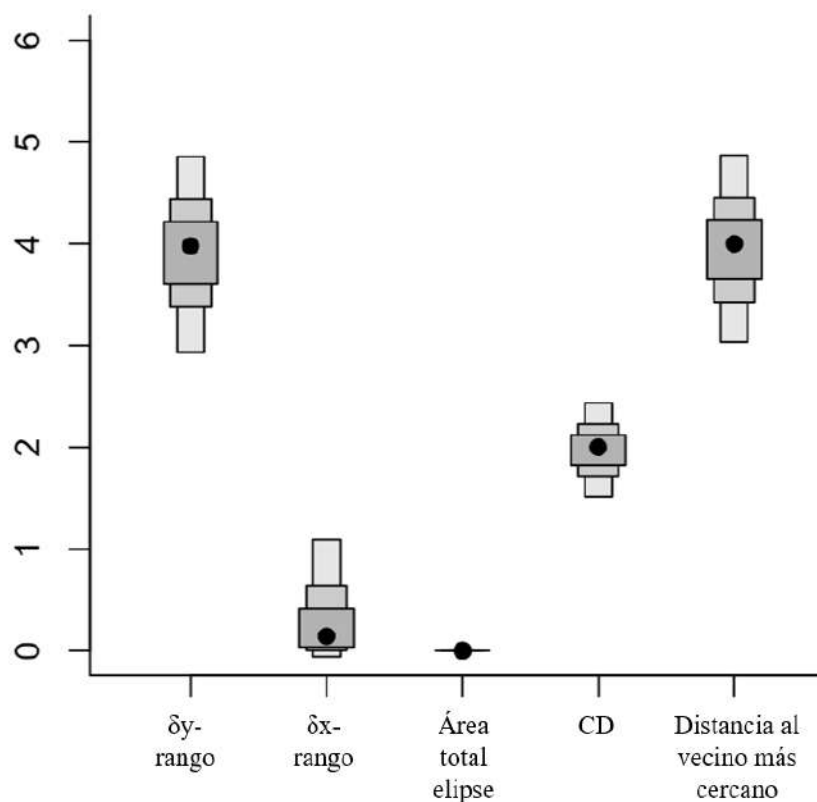


Figura 4. Gráfico de la variabilidad de las SEAc: rango $\delta^{15}\text{N}$ (rango δy), rango $\delta^{13}\text{C}$ (rango δx), área total de la elipse, distancia del centroide (CD) y distancia al vecino más cercano (prueba U de Mann-Whitney, $p < 0,001$). Prueba basada en 10.000 valores simulados (Wilcoxon) por grupo a partir de distribuciones log-normales ajustadas a la mediana y los percentiles del 95 %.

El gráfico muestra un patrón claro: la mayor dispersión la aporta el δy -rango ($\delta^{15}\text{N}$), lo que indica que entre los individuos muestreados existe una notable variación en el nivel trófico consumido. Es decir, dentro de la población conviven individuos con dietas más frugívoras (niveles tróficos bajos) y otros que consumen en mayor proporción presas de nivel trófico superior (insectos adultos u otros pequeños invertebrados/vertebrados), lo que se traduce en una amplia gama de valores de nitrógeno. En contraste, el δx -rango ($\delta^{13}\text{C}$) es relativamente estrecho, señalando que la base de carbono de la dieta es homogénea (probablemente dominada por fuentes tipo C_3 del bosque templado), por tanto, las diferencias dietarias entre individuos se expresan más por la proporción animal/vegetal que por cambios en la fuente basal de carbono.

Las métricas agregadas aportan matices complementarios; el área total (AT) aparece reducida, lo que sugiere que, pese a la existencia de individuos extremos en $\delta^{15}\text{N}$, la mayoría se concentra en un núcleo isotópico compacto (o bien que el tamaño muestral limita la estimación del casco convexo). La distancia

media al centroide (CD) en valores moderados confirma una heterogeneidad interindividual apreciable existe variación respecto a la dieta promedio, pero no una dispersión extrema; mientras que la distancia al vecino más cercano, relativamente elevada, apunta a baja redundancia trófica: los individuos no se sobreponen completamente en el espacio isotópico y varios ocupan posiciones distintas, lo que es coherente con una cierta partición de recursos o especialización individual dentro de una población que mantiene una base de recursos común. En conjunto, estos indicadores describen una población con base alimentaria estable, pero con plasticidad en la incorporación de presas de distinto nivel trófico, una configuración esperable en un generalista que muestra especialización individual más que un cambio generalizado en la fuente basal.

4. DISCUSIÓN

El objetivo general de esta tesis fue evaluar las variaciones temporales en la amplitud del nicho isotópico de *D. gliroides* y su relación con la dieta omnívora de la especie, considerando dos escalas temporales: la década de 1980 y el periodo actual (2019–2021), en las localidades de Valdivia y Chiloé. Para ello, se aplicó el análisis de isótopos estables (AIE) de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) a muestras de pelo de individuos provenientes de colecciones biológicas, complementado con el uso de los paquetes SIBER y SIAR del software R, que permitieron caracterizar gráficamente el nicho isotópico (SEAc) y evaluar estadísticamente su amplitud (SEAb).

4.1 Cambios en la amplitud del nicho isotópico

Los resultados obtenidos indican que la amplitud del nicho isotópico fue mayor en la década de 1980 en comparación con la actualidad, tanto en Valdivia como en Chiloé (figura 3), lo que se evidenció visualmente a través de las elipses estándar (SEAc). Esta mayor amplitud sugiere que, en el pasado, *D. gliroides* presentaba una dieta más diversa o fluctuaciones tróficas más amplias, probablemente en respuesta a una mayor disponibilidad o variedad de recursos alimenticios. En cambio, las elipses actuales son más compactas, lo que podría interpretarse como una mayor especialización dietaria o una reducción en la diversidad de presas disponibles. Un patrón similar fue descrito en comunidades de pequeños mamíferos de la Mata Atlántica, donde los roedores ocuparon un nicho isotópico más amplio, distribuyéndose en distintos niveles tróficos y utilizando fuentes de carbono diversas, mientras que los marsupiales mostraron un espacio isotópico mucho más estrecho, lo que evidencia una menor diversidad trófica y una especialización más marcada (Galetti *et al.* 2016).

4.2 Variación local y trófica en Valdivia y Chiloé

Al comparar las localidades, se observó que, en Valdivia, a pesar de la reducción en el tamaño de la elipse, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ se mantuvieron en niveles relativamente altos, lo que sugiere una tendencia hacia una dieta más insectívora en la época actual. Esto podría estar relacionado con una especialización trófica, no necesariamente forzada por una baja disponibilidad de recursos, dado que el sitio de muestreo (BSM) se mantiene relativamente conservado. Es plausible que, la disponibilidad de recursos en el ambiente se haya reducido por acción del cambio climático, ya que el entorno no ha sido afectado a lo largo de los años. Por el contrario, en Chiloé se detectó un enriquecimiento más notorio en $\delta^{15}\text{N}$ en la actualidad, lo que también apunta a una mayor proporción de presas de mayor nivel trófico, como insectos adultos. Sin embargo, esta localidad ha experimentado mayores procesos de fragmentación del

hábitat, lo que podría haber forzado una ampliación dietaria o un cambio en la estructura del nicho (Galetti *et al.* 2015, Galetti *et al.* 2016). Lo anterior también se podría explicar por una cantidad de datos más ajustada, dado por la disponibilidad de muestras para el análisis.

4.3 Fragmentación y alteración del hábitat

El cambio climático, la alteración del uso del suelo por actividades humanas y la pérdida de depredadores ápice están favoreciendo la predominancia de especies generalistas entre ellas numerosos mamíferos y aves que en muchos casos amplían su área de distribución e invaden nuevas comunidades (Prugh *et al.* 2009, Davey *et al.* 2011). Debido a su dieta amplia y flexible, estos generalistas pueden integrar recursos de múltiples niveles tróficos dentro de una misma red alimentaria, lo que complica predecir tanto su impacto ecológico como la respuesta de sus poblaciones frente a cambios ambientales (Walash *et al.* 2020). En este marco, los resultados observados en Chiloé toman sentido: la degradación progresiva del hábitat y la fragmentación del bosque templado, acompañadas de cambios en el uso del suelo, han alterado la disponibilidad y diversidad de recursos tróficos. Según la hipótesis de heterogeneidad del hábitat (MacArthur 1972), paisajes más complejos deberían ofrecer más nichos y, por ende, favorecer una mayor amplitud trófica; sin embargo, los datos no respaldan esa predicción. Las elipses isotópicas actuales son menores que las históricas lo que cuestiona la capacidad de *D. gliroides* para ampliar su nicho ante el estrés ambiental y la pérdida de recursos.

4.4 Evaluación estadística y consistencia con la hipótesis

El análisis bayesiano del Área de la Elipse Estándar (SEAb) arrojó diferencias estadísticamente significativas entre épocas (cuadro 1 y 2), así mismo, la representación visual a través del SEAc evidenció que la amplitud del nicho fue mayor en los años 80. Esto sugiere una potencial pérdida de diversidad trófica en el tiempo, que podría no ser detectada únicamente a través de pruebas estadísticas convencionales, pero que resulta relevante desde una perspectiva ecológica. Esta tendencia se ve reforzada al observar los valores de las métricas del nicho isotópico para las localidades de Valdivia y Chiloé. En Valdivia, la comunidad del pasado presentó un rango de $\delta^{15}\text{N}$ (NR) y $\delta^{13}\text{C}$ (CR) considerablemente mayor (figura 4), así como una mayor área total del nicho (TA: 8.03 vs. 0.84) y SEAc (4.44 vs. 0.37), indicando una red trófica más diversa y compleja que la observada actualmente. Lo mismo ocurre en Chiloé, aunque con diferencias menos marcadas: el valor de SEAc pasó de 3.39 en el pasado a 0.74 en la actualidad, y los valores de SEAb se redujeron desde una mediana de $\sim 8\text{--}12\text{‰}^2$ a $\sim 2\text{--}4\text{‰}^2$. En conjunto, estos resultados refuerzan la hipótesis de una contracción del nicho trófico en

ambas localidades, lo que podría reflejar una pérdida de diversidad funcional, una simplificación de las interacciones tróficas o efectos antrópicos sobre la estructura de las comunidades (Layman *et al.* 2007).

Las métricas analizadas revelan un patrón coherente: la base de carbono en la dieta de *D. gliroides* es relativamente estable (δx -rango reducido), mientras que existe una variación considerable en el nivel trófico entre individuos (δy -rango elevado) y una heterogeneidad individual notable (CD y distancia al vecino moderadas-altas). Esto indica que la mayor parte de la población se alimenta de fuentes de carbono similares (probablemente plantas C_3 del dosel del bosque), pero que los individuos difieren marcadamente en la proporción animal vs. vegetal de su dieta. Estas diferencias pueden explicarse, al menos en parte, por la variación dietaria estacional (anteriormente descrita por Celis-Diez 2012) a lo largo del año los monitos alternan entre frutos y presas (insectos) según su disponibilidad vertical y temporal en el bosque, lo que genera las fluctuaciones observadas en $\delta^{15}N$.

Este conjunto de resultados encaja con el comportamiento típico de un generalista trófico: una base dietaria común combinada con plasticidad en la intensidad de consumo de recursos de mayor nivel trófico, manifestada como especialización individual más que como un cambio colectivo en la fuente basal (Ingram *et al.* 2018). Para la interpretación de esta tesis, ello sugiere que las respuestas de *D. gliroides* ante alteraciones ambientales operan predominantemente a nivel individual (mediante ajustes en estrategias alimentarias) y no necesariamente mediante una reconfiguración generalizada de la base trófica de la población.

4.5 Interpretación isotópica de la dieta

Los valores de $\delta^{13}C$ se mantuvieron relativamente estables entre épocas y localidades, indicando que las fuentes primarias de carbono en la dieta no han variado significativamente. Sin embargo, el leve enriquecimiento en $\delta^{15}N$ observado especialmente en la actualidad en Chiloé sugiere una mayor ingesta de presas de nivel trófico superior, probablemente insectos o vertebrados de pequeño tamaño. Este patrón es consistente con una respuesta trófica a la alteración del entorno, aunque no necesariamente con una ampliación del nicho. La comparación de elipses entre épocas en Valdivia refuerza esta interpretación: la elipse de la década de 1980 (Valdivia_80') es más amplia, abarcando un rango de $\delta^{15}N$ entre 0‰ y 8.3‰ y de $\delta^{13}C$ entre -26.6‰ y -22.4‰, mientras que la actual (Valdivia_20') es más compacta, entre 4‰ y 6‰ en $\delta^{15}N$ y entre -25‰ y -23.8‰ en $\delta^{13}C$, indicando una dieta más homogénea y posiblemente más especializada.

4.6 Limitaciones y futuras proyecciones

Cabe señalar una limitación puntual pero relevante para la interpretación isotópica: la línea base utilizada (frutos e insectos) fue colectada mayoritariamente a la altura que alcanza una persona, sin muestreos estratificados a lo largo del gradiente vertical del dosel. Dado que *D. gliroides* explota recursos en distintos estratos arbóreos, este sesgo vertical puede provocar una representación incompleta de las firmas isotópicas disponibles en el paisaje, por ejemplo, subestimando presas o frutos propios de estratos altos con valores isotópicos distintos y, en consecuencia, condicionar tanto las estimaciones de proporciones dietarias como la forma y amplitud en las elipses isotópicas (figura 3). En base a lo anterior, futuros estudios debieran incorporar un muestreo estratificado de recursos a lo largo del dosel, lo que permitiría una caracterización más robusta y multidimensional de la dieta y los flujos energéticos asociados a la especie.

Asimismo, el tamaño muestral reducido influyó en los resultados de la localidad de Chiloé (cuadro 4), donde se detectaron diferencias estadísticas que no se observaron en Valdivia (cuadro 3). Este fenómeno se atribuye a la baja dispersión (varianza) intra-grupal de los datos, más que a una divergencia real y marcada entre los tratamientos. Desde un punto de vista ecológico, este resultado carece de relevancia biológica, dado que la magnitud del efecto no representa una variación funcional en el nicho isotópico de *D. gliroides*. Por consiguiente, para futuros estudios se recomienda utilizar un tamaño muestral superior al mínimo requerido por SIBER para evitar la sobrerrepresentación de diferencias menores.

5. CONCLUSIÓN

El presente estudio evaluó las variaciones temporales en la amplitud del nicho isotópico de *D. gliroides* en dos localidades del sur de Chile, Valdivia y Chiloé, a partir de la comparación entre muestras históricas de la década de 1980 y registros actuales (2019–2021). A través del análisis de isótopos estables de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$), complementado con modelos bayesianos de mezcla isotópica y métricas de amplitud de nicho, fue posible explorar cómo la dieta de este marsupial generalista ha respondido a los cambios ambientales ocurridos en las últimas décadas.

Los resultados revelan un patrón consistente, en ambas localidades, la amplitud del nicho isotópico fue mayor en la década de los 80's que en la actualidad. Esto indica que, históricamente, *D. gliroides*

accedía a una mayor diversidad de recursos alimenticios, mientras que en el presente su dieta parece más restringida y especializada. Este hallazgo resulta especialmente relevante porque los generalistas, suelen expandir su nicho en ambientes perturbados, aprovechando la mayor disponibilidad de recursos alternativos. Sin embargo, los resultados sugieren que, en lugar de ampliar su dieta, *D. gliroides* habría reducido su diversidad alimentaria frente a los cambios ambientales y la fragmentación del bosque templado. Esto plantea preguntas sobre la plasticidad trófica de la especie y sobre su resiliencia ecológica en escenarios de pérdida y degradación del hábitat. La aparente especialización observada podría reflejar limitaciones en la oferta de recursos disponibles, o bien una dependencia más fuerte de ciertos ítems tróficos claves (como frutos específicos e insectos asociados a microhábitats particulares), cuya abundancia se ha visto comprometida por la transformación del paisaje.

En conjunto, estos resultados muestran que el monito del monte no ha seguido la predicción esperada para los generalistas en ambientes fragmentados, es decir, no ha expandido su nicho trófico en las últimas décadas. Por el contrario, ha reducido su diversidad isotópica, lo que podría disminuir su capacidad de resiliencia ecológica frente a escenarios futuros de cambio climático y mayor pérdida de hábitat. Esto resalta la necesidad de conservar la integridad del bosque templado lluvioso y sus interacciones ecológicas, particularmente aquellas vinculadas a la dispersión de semillas, un rol clave que *Dromiciops* desempeña en estos ecosistemas.

Finalmente, este trabajo contribuye a la comprensión de la ecología trófica de *D. gliroides* desde una perspectiva temporal y comparativa, utilizando herramientas modernas como el análisis de isótopos estables y los modelos bayesianos de nicho isotópico. Los hallazgos no solo enriquecen el conocimiento sobre la historia natural de este marsupial relictivo, sino que también entregan información valiosa para su conservación, destacando que incluso especies consideradas generalistas pueden ver restringido su rango trófico en paisajes fragmentados. En este sentido, los resultados aquí expuestos refuerzan la importancia de integrar aproximaciones ecológicas, históricas y espaciales en el diseño de estrategias de conservación para especies con un rol ecológico clave y con un alto valor patrimonial como el monito del monte.

6. REFERENCIAS

- Aguilar J. 2018. Antecedentes básicos para la generación de un Plan de Ordenación Predial para el fundo Llancahue, Cordillera de la Costa, provincia de Valdivia.
- Amico G, C Rodríguez-Cabal, M Aizen. 2009. The potential key seed-dispersing role of the arboreal marsupial *Dromiciops gliroides*. *Acta oecologica* 35(1): 8-13.
- Arroyo M, P Marquet, C Marticorena, J Simonetti, L Cavieres, F Squeo, R Rozzi. 2004. Chilean Winter Rainfall Valdivian Forest. In A Mittermeier, P Robles, F Hoffmann, J Pilgrim, T Brooks, C Mittermeier, J Lamoreux, G Fonseca. *Hospots Revisited*. 1 ed. Mexico City, Mexico. Cemex. P 99-103.
- Bozinovic F, G Ruiz, M Rosenman. 2004. Energetics and torpor of a South American “living fossil”, the microbiotheriid *Dromiciops gliroides*. *Journal of Comparative Physiology B* 174(4): 293-297.
- Camus I, Z Boratynski, R Nespolo. (en prensa). Extreme seasonal variation in aerobic capacity in a natural population of hibernators: Using the slow-fast continuum to test the aerobic flexibility hypothesis. *Jornal of Experimental Biology*.
- Celis-Diez J, J Hetz, P Marín-Vial, G Fuster, P Necochea, R Vásquez, F Jaksic, J Armesto. 2012. Abundancia poblacional, historia natural y uso del hábitat por el marsupial arbóreo *Dromiciops gliroides* en la zona rural de la isla de Chiloé, Chile. *Journal of Mammalogy* 93(1):134–148.
- Cortés P, M Franco, P Sabat, S Quijano and R Nespolo. 2011. Bioenergética y flexibilidad fenotípica intestinal en el marsupial microbiotherídico (*Dromiciops gliroides*) del bosque templado de América del Sur. *Bioquímica y Fisiología Comparada Parte A: Fisiología Molecular e Integrativa* 160(2):117-124.
- Davey C, D Chamberlain, S Newson, D Noble, A Johnston. 2012. Rise of the generalists: evidence for climate driven homogenization in avian communities. *Global Ecology and Biogeography* 21(5): 568-578.
- D’Elía G, N Hurtado, A D’Anatro. 2016. Alpha taxonomy of *Dromiciops* (Microbiotheriidae) with the description of 2 new species of monito del monte. *Journal of Mammalogy* 97(4):1136-1152.
- Di Castri F, E Hajek. 1976. Bioclimatología de Chile (Vol. 128, p. 163). Santiago: Vicerrectoría Académica de la Universidad Católica de Chile.

- DeNiro M, S Epstein. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et cosmochimica acta* 45(3): 341-351.
- Feng S, M Bai, I Rivas-González, C Li, S Liu, Y Tong, ... G Zhang. 2022. Clasificación incompleta del linaje y evolución fenotípica en marsupiales. *Celda* 185(10):1646-1660.
- Fontúrbel F, L Franco, F Bozinovic, J Quintero-Galvis, C Mejías, G Amico, M Vázquez, P Sabat, J Sánchez-Hernández, D Watson, P Saenz-Agudelo, R Nespolo. 2022. La ecología y evolución del monito del monte, una especie relictiva de los bosques templados del sur de Sudamérica. *Ecología y Evolución* 12 (3):1-17.
- Galetti M, R Guevara, C Neves, R Rodarte, R Bovendorp, M Moreira ... and J Yeakel. 2015. Defaunation affects the populations and diets of rodents in Neotropical rainforests. *Biological Conservation* 190: 2-7.
- Galetti M, R Rodarte, C Neves, M Moreira, R Costa-Pereira. 2016. Trophic niche differentiation in rodents and marsupials revealed by stable isotopes. *PLoS One* 11(4)1-15.
- González M, C Donoso. 1999. Producción de semillas y hojarasca en *Chusquea quila* (Poaceae: Bambusoideae), posterior a su floración sincrónica en la zona centro-sur de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 72(2):169-180.
- Goin F, M Abello. 2013. Los metatheria sudamericanos de comienzos del neógeno (Mioceno temprano, edad mamífero colhuehuapense): microbiotheria y polydolopimorphia. *Ameghiniana* 50(1): 51-78.
- Ingram T, R Costa-Pereira, M Araújo. 2018. The dimensionality of individual niche variation. *Ecology* 99(3):536-549.
- Jackson A. R Inger, C Parnell, S Bearhop. 2011. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER—Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology* 80(3): 595-602.
- Jaña-Prado R, J Celis-Diez, A Gutiérrez, C Cornelius, J Armesto, A Grez ... and R Bustamante. 2006. Diversidad en bosques fragmentados de Chiloé ¿son todos los fragmentos iguales? En Audrey A. Grez, Ramiro O. Bustamante, Javier A. Simonetti eds. *Biodiversidad en ambientes fragmentados de Chile: Patrones y procesos a diferentes escalas* Editorial Universitaria p. 159-189.

- Layman C, D Arrington, C Montaña, D Post. 2007. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure?. *Ecology* 88(1):42-48.
- Martín G. 2018. Variability and variation in *Dromiciops* Thomas, 1894 (Marsupialia, Microbiotheria, Microbiotheriidae). *Journal of Mammalogy* 99:159-173.
- Martín G. 2019. The palmar and plantar anatomy of *Dromiciops gliroides* Thomas, 1894 (Marsupialia, Microbiotheria) and its relationship to Australian marsupials. *Journal of Mammalian Evolution* 26:51-60.
- Mateo M. J Ferrio, J Araus. 2004. Isótopos estables en fisiología vegetal. En Reigosa M, Pedrol N, y A Sánchez eds. La ecofisiología vegetal, una ciencia de síntesis. Paraninfo. p.113-160.
- MacArthur R. 1984. *Geographical ecology: patterns in the distribution of species*. Princeton University Press.
- McGill B, B Enquist, E Weiher, M Westoby. 2006. Reconstruct the ecology of the community from functional traits. *Trends in ecology and evolution* 21(4): 178-185.
- McNab B. 1997. On the utility of uniformity in the definition of basal rate of metabolism. *Physiological Zoology* 70(6): 718-720.
- Mejías C, C Castro-Pastene, H Carrasco, J Quintero-Galvis, M Soto-Gamboa, F Bozinovic, R Nespolo. 2021. Natural history of the relict marsupial Monito del Monte at the most extreme altitudinal and latitudinal location. *Ecosphere* 12(6): 1-8.
- Murúa R, L González, M Briones. 2005. Cambios en el ensamble de micromamíferos durante la sucesión secundaria en un bosque costero de Valdivia, Chile. *Historia, Biodiversidad y Ecología de los bosques costeros de Chile*. Santiago, Chile. Universitaria 516-532 p.
- Negrete P, M Sallaberry, G Barceló, K Maldonado, F Perona, R McGill ... and P Sabat. 2017. Temporal variation in isotopic composition of *Pygoscelis* penguins at Ardley Island, Antarctic: Are foraging habits impacted by environmental change?. *Polar biology* 40(4):903-916.
- Nespolo R, F Fontúrbel, C Mejías, R Contreras, P Gutiérrez, E Oda... and F Bozinovic. 2022. A mesocosm experiment in ecological physiology: the modulation of energy budget in a hibernating marsupial under chronic caloric restriction. *Physiological and Biochemical Zoology* 95(1):66-

81. Nespolo R, E Oda, G Gómez, F Fonturbel. 2019. Southernmost records of *Dromiciops gliroides*: extending its distribution beyond the Valdivian rainforest. *Gayana* 83(2):145-149.
- Newsome S, C Martínez del Río, S Bearhop, D Phillips. 2007. Un nicho para la ecología isotópica. *Fronteras de la Ecología y el Medio Ambiente* 5(8): 429-436.
- Quintero-Galvis J, P Sáenz-Agudelo, J Celis-Diez, G Amico, S Vázquez, A Shafer, R Nespolo. 2021. La biogeografía de *Dromiciops* en el sur de América del Sur: transgresiones del Mioceno medio, especiación y asociaciones con *Nothofagus*. *Filogenética Molecular y Evolución* 163:107234.
- Quintero-Galvis J, P Saenz-Agudelo, G Amico, S Vazquez, A Shafer, R Nespolo. 2022. Genomic diversity and demographic history of the *Dromiciops* genus (Marsupialia: Microbiotheriidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 168(1):107405.
- Post D. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83(3): 703-718.
- Prugh L, C Stoner, C Epps, W Bean, W Ripple, A Laliberte, J Brashares. 2009. The rise of the mesopredator. *Bioscience* 59(9): 779-791.
- R Core Team. 2023. R: A language and environment for statistical computing (Version 4.3.1) [Software]. R Foundation for Statistical Computing.
- Ribeiro J. 2015. Uso de hábitat em diferentes escalas, distribuição da diversidade e nicho isotópico de comunidades de pequenos mamíferos do Cerrado central. [Tesis de doctorado]. Departamento de Pós-graduação em Ecologia. Universidade de Brasília.
- Santori R, L Lessa, D Astúa. 2012. Alimentação, nutrição e adaptações alimentares de marsupiais brasileiros. *Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e conservação* 2:385-406.
- Squeo, F. A., Ehleringer, J. R. 2004. Isótopos estables: una herramienta común para la ecofisiología vegetal y animal. *Fisiología Ecológica en Plantas: Mecanismos y Respuestas a Estrés en los Ecosistemas*, 59-80.
- Suárez-Villota E, J Quercia, M Nuñez, C Gallardo, C Himes, G. Kenagy. 2018. Monotypic status of the South American relictual marsupial *Dromiciops gliroides* (Microbiotheria). *Journal of Mammalogy* 99:803-812.

- Tieszen L, T Boutton, K Tesdahl, N Slade. 1983. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for $\delta^{13}\text{C}$ analysis of diet. *Oecologia* 57: 32-37.
- Valladares-Gómez A, J Celis-Diez, R Palma, G Manríquez. 2017. Cranial morphological variation of *Dromiciops gliroides* (Microbiotheria) along its geographical distribution in south-central Chile: a three-dimensional analysis. *Mammalian Biology* 87:107-117.
- Vázquez M. 2023. Aspectos poblacionales y rol ecológico del monito del monte (*Dromiciops gliroides*), un marsupial clave para el bosque templado de Patagonia [Tesis presentada para optar al título de Doctora en Biología]. Universidad Nacional del Comahue Centro Regional Universitario Bariloche.
- Walsh L, P Tucker. 2020. Isotopic niche breadth of a generalist mesopredator increases with habitat heterogeneity across its range. *Ecosphere* 11(12):1-10.

7. ANEXOS

Anexo 1. Tabla de posición trófica por individuo.

Localidad	Época	$\delta^{15}\text{N}$	Posición trófica
Valdivia	Actual	4.834	2
		5.066	2
		4.530	2
		4.936	2
		4.641	2
		4.962	2
		4.098	2
		4.962	2
		5.852	2
		4.778	2
		4.497	2
		4.959	2
		5.469	2
		4.462	2
		4.297	2
		5.367	2
		5.188	2
		5.468	2
	Pasado	4.119	2
		6.496	3
		6.628	3
		5.506	2
		5.891	3
		3.943	2
		6.573	3
		4.543	2
5.337		2	
2.797		2	
4.349	2		
4.516	2		
-0.078	1		
4.685	2		
Chiloé	Actual	4.463	2
		4.919	2

		8.557	3
		5.598	2
		6.668	3
		4.563	2
	Pasado	3.167	2
		4.107	2
		5.526	2
		4.582	2
		7.087	3