

## Genética

# ESTRUCTURA GENÉTICA Y SIMULACIONES DE MÁXIMA VEROSIMILITUD Y ESTADÍSTICA BAYESIANA APLICADA A LA CONSERVACIÓN GENÉTICA DEL OSO ANDINO (*TREMARCTOS ORNATUS*) EN VENEZUELA, COLOMBIA, ECUADOR, Y PERU

Por:

[Manuel Ruiz-García](#)<sup>1</sup>; Pablo Orozco-Terwengel<sup>1</sup>; Armando Castellanos<sup>2</sup>; Leonardo Arias<sup>2</sup>

1- Genética de Poblaciones-Biología Evolutiva. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Cra 7A No 43-82. Bogotá, Colombia. 2- Fundación Espíritu del Bosque, Quito, Ecuador.

Se analizaron 148 muestras de oso andino procedentes de Venezuela, Colombia, Ecuador, y Perú mediante 9 microsátelites (G1A, G1D, G10B, G10C, G10M, G10P, G10X, UarMu 50, UarMu, 59). Igualmente se ha procedido a secuenciar el área de control del ADN mitocondrial y se han obtenido marcadores RAPDs con los oligonucleótidos M9, AK5, L2, S1, P17, Z10, AE8, M4, A7, M15, A17, OPA-18, OPC-14, OPG-03, OPG-04, OPG-10, OPH-03, OPI-05, OPQ-01, A67, AC6, AA3, D16, G11, AK19, A10, C14, OPA-09 Y OPA-12 para todas las muestras de oso andino referidas. Los resultados más destacados fueron los siguientes:

1. No existencia de equilibrio Hardy-Weinberg en ninguna de las poblaciones analizadas en cada uno de los países, lo que evidencia la existencia de efecto Wahlund en el seno de los países e, incluso, fragmentación genética en áreas geográficas relativamente pequeñas.
2. Los niveles de variabilidad genética fueron bajos ( $H = 0.40$ , población total). Alarmanamente bajo fue el nivel de heterocigosidad en la población de Ecuador ( $H = 0.27$ ) y Perú ( $H = 0.31$ ).
3. Los niveles de flujo génico resultaron bajísimos ( $Nm = 0.2-0.3$ ) tanto para los métodos a partir de heterocigosidades con diversos modelos mutacionales (IAM y SMM), como a partir de modelos de máxima verosimilitud como los de Beerli & Felsenstein (1999) (Migrate), con los parámetros estimados por el método de Metrópolis-Hastings, y con el método de Rannala & Mountain (1997) (IMMANC). Este último método permitió detectar varios ejemplares colombianos cuyos ancestros habían migrado, hace entre 4 y 6 generaciones, desde acervos genéticos propios de Venezuela y Ecuador.
4. Los números efectivos calculados a partir de los métodos de máxima verosimilitud de Griffiths & Tavaré (1994), y de las heterocigosidades con los modelos IAM y SMM oscilaron de la siguiente forma: Población Total ( $N_e = 19.000-24.000$ ), Venezuela ( $N_e = 912-1129$ ), Colombia ( $N_e = 3.605-6.897$ ) y Ecuador ( $N_e = 778-2.778$ ). De forma paralela, se aplicó el modelo simulacional de O'Ryan et al., (1998), obteniendo las densidades posteriores por el método de verosimilitud y el log-de los valores de verosimilitud frente a la media armónica del tamaño de las poblaciones, lo que permitió tener estimas más precisas que las anteriores. La aplicación de los modelos bayesianos de Pritchard et al., (2000) (STRUCTURE) permitió distinguir cuantos

acervos genéticos diferentes se encontraron en el interior de cada uno de los países estudiados. Una vez se distinguieron esos diferentes acervos genéticos, se procedió a calcular la probabilidad de error al clasificar un oso en un acervo genético que no le corresponde con el método de Cornuet et al., (1999) (GENECLASS) empleando los procedimientos “Leave one out” y “As is” tanto con modelos de máxima verosimilitud como con el modelo de distancias genéticas y frecuencias. Se obtuvieron probabilidades muy elevadas de asignamiento correcto de cada oso a su respectivo acervo genético.

5. Se analizó la posible existencia de estructura espacial mediante el método kinship, el método de aislamiento por distancia de Slatkin (1993) y autocorrelación espacial uni y bidimensional. En todos los casos se observó una fuerte disposición al aislamiento por distancia. Se obtuvieron algunas clinas significativas que pueden indicar las rutas de migración de los osos en el momento de la colonización. Los haplotipos mitocondriales maternos trazan de una forma bastante consistente cuáles fueron las diversas rutas migrativas, al menos de las hembras, en el proceso de colonización de Sudamérica.

6. Se detectó cuales de esos marcadores moleculares están bajo la acción de la selección natural utilizando dos aproximaciones diferentes. Por un lado se utilizó el método de Lewontin-Krakauer (1973) y, por otro, el método de Beaumont & Nichols (1996) con el programa fdist. Se detectaron dos marcadores microsatélites que están bajo la acción de la selección natural unificante. También se emplearon las simulaciones de Monte Carlo con cadenas de Markov (MCMC) para determinar la distribución de la densidad posterior que permite calcular si las poblaciones analizadas provienen de un modelo donde el flujo génico ha sido importante o bien proceden de un modelo poblacional, donde la deriva genética ha sido el factor fundamental en la estructuración de esas poblaciones. En el caso del oso andino, al aplicar el programa 2mod, se observó claramente que la segunda opción ha sido la más importante en el pasado genético y demográfico del oso andino, lo cual sugiere que las poblaciones de oso andino han sido pequeñas siempre.

7. La aplicación de los métodos de Cornuet & Luikart (1996) y de Garza & Williamston (2001) ponen de relevancia la inexistencia de equilibrio en las poblaciones de oso andino, que no permite detectar la existencia de un cuello de botella reciente. Paralelamente, se aplicaron los tests para detectar expansión poblacional,  $k$  (kurtosis intralocus) y  $g$  (varianza interlocus), que no detectaron esa posibilidad en las poblaciones de osos analizados. Por último, la aplicación de la técnica MCMC de Beaumont (1999) mediante el contraste del  $\log_{10}(\theta)$ ,  $\log_{10}(r)$  y  $\log_{10}(t_f)$ , sí mostró la detección de una disminución poblacional importante en esta especie probablemente desde su origen. Este método, aunque matemática y conceptualmente más complejo que otros, permite detectar con más facilidad cambios en el número de reproductores en tiempos pasados respecto a los otros métodos empleados.

8. La aplicación de las propiedades matemáticas de ciertas distancias genéticas como la  $\delta\mu^2$  de Goldstein et al., (1995) permitió calcular hace cuantos años se separaron las poblaciones de osos analizadas (12.000-16.000 años), lo cual coincide probablemente con la penetración de esta especie en Sudamérica y con los últimos cambios glaciares ocurridos en América.

Lo aquí presentado es un resumen de los resultados más importantes obtenidos hasta la fecha analizando la estructura genética y los procesos filogeográficos en el oso andino a partir de la utilización de marcadores moleculares que han sido posibles de utilizar a partir de la obtención de ADN proveniente de muestras de sangre, pelos con bulbos, trocitos de pieles, excrementos, dientes y huesos que diferentes investigadores han suministrado a los autores de investigación mostrada. Entre ellos cabe mencionar a las siguientes personas que, sin su ayuda, no habría sido posible llevar a cabo este proyecto de investigación pionero en Latino América y en el Mundo: Sergio Sandoval, Andrés Eloy Bracho, Jorge Gardeazabal, Fernando Nassar, Marcela Ramírez, Luz Mercedes Borrero, Bob Wallace (WCS), Susan Paisley, Pedro Moreno, Ricardo Botero, el Museo de Historia Natural de la Paz, el Museo de Historia Natural Noel Kempff, la colección mastozoológica del Instituto Von Humboldt, Esteban Payán, Daniel Rodríguez, Heinz Pflenge, Hugo Gálvez, y a las personas que ayudaron a Armando Castellanos en la recolección de muestras en el campo. Muchas gracias a ellos por su importante misión. El resumen aquí presentado es una pequeña parte de los trabajos publicados, o en vía de ser publicados, en las revistas *Hereditas*, *Molecular Ecology*, *Conservation Genetics* y *Ursus* y expuestos en los siguientes congresos: Reunión de especialistas en Riobamba (Ecuador), I Jornadas Universitarias de Genética (Bogotá, DC, Colombia), 7<sup>o</sup> Congreso de la Sociedad Europea de Biología Evolutiva (Aarhus, Dinamarca), V Congreso Internacional de Manejo de Fauna en la Amazonía y Latinoamérica (Cartagena, Colombia), International Molecular Evolution Congress (Nápoles, Italia) y V Congreso Nacional Colombiano de Genética (Bogotá DC., Colombia). Quién esté interesado en ampliar su conocimiento sobre los resultados aquí presentados, por favor, contactar al primer autor.