

Genética evolutiva y molecular de la familia Ursidae: una revisión bibliográfica actualizada

Luis Antonio Juárez-Casillas¹ y Cora Varas²

Abstract

The taxonomic relationships among the eight extant species of the Ursidae family are not well known; however, molecular genetics markers has consistently shown three major clades: the line that leads to the giant panda, the line that leads to the spectacled bear, and a polytomy lineage that results in six other species (American black bear, Asiatic black bear, polar bear, brown bear, sloth bear and sun bear). The phylogenetic relationship of some of the bear species is not well known and it may change with the development of new molecular markers, then, the controversies that surround the family of bears could be resolved. Also, literature shows variation in the genetic diversity values reported for the ursids due to the degree of fragmentation; however, the variation is also related to the molecular technique used.

Key Words: *Evolution, Genetic Diversity, Phylogeny, Ursidae*

Resumen

No se conoce con precisión la relación taxonómica que guardan las ocho especies actuales de la Familia Ursidae. Sin embargo, de manera consistente los análisis demuestran tres principales grupos. El primero es la línea que origina al panda gigante, el segundo lleva a la aparición del oso de anteojos, y el tercero es una divergencia politípica que deriva en seis especies (negro americano, negro asiático, gris, polar, bezudo y malayo). La historia evolutiva de algunas especies de los osos no está conocida y posiblemente cambiará conforme nuevas evidencias tanto morfológicas, paleontológicas y moleculares estén disponibles. Así mismo, se aprecia en la literatura una diferencia en los valores de diversidad genética reportados para poblaciones de diferentes especies en este grupo de carnívoros dependiendo del grado de fragmentación de las poblaciones. Sin embargo, la variación depende también de la técnica molecular implementada.

Palabras claves: *Diversidad Genética, Evolución, Filogenia, Ursidae*

Introducción

Los miembros de la Familia Ursidae, comúnmente llamados osos, son de los mamíferos más estudiados dentro del Orden Carnivora, especialmente en sus hábitos alimentarios

¹ljuarez@ibiologia.unam.mx; 01 (55) 56228222 ext. 47858, Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, UNAM. 3er. Circuito Cultural; Apartado Postal 70-153, Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México. D. F. 04510.
²cora@email.arizona.edu; 001 (520) 6212161, School of Natural Resources, Arizona Fish and Wildlife Research Unit, University of Arizona. Tucson, Arizona, 85721.

(Hilderbrand *et al.* 1996; Noyce y Garshelis 1997), reproducción (Eiler *et al.* 1989), dinámica poblacional (Young y Ruff 1982), ámbito hogareño (Samson y Huot 2001), historias de vida (Freedman *et al.* 2003) y estimación poblacional (Boersen *et al.* 2003). Sin embargo, históricamente la información genética disponible para este grupo era muy escasa debido a los elevados costos y a la dificultad para desarrollar análisis moleculares. No obstante, en las últimas décadas el uso de técnicas de muestreo no-invasivas y la habilidad de obtener ADN de mejor calidad han tenido un rápido desarrollo y los análisis genéticos pueden ser realizados con relativa facilidad y a bajos costos. Esto ha permitido aclarar varias de las incógnitas filogenéticas que los datos paleontológicos y morfológicos no han podido resolver; sin embargo, la posición taxonómica de algunos miembros de este grupo sigue siendo polémica, como se demuestra en este trabajo.

Hemos incluido una revisión de cómo el uso de las herramientas moleculares pueden ser útiles para detectar las relaciones filogenéticas dentro de los miembros de la Familia Ursidae, además de una sección sobre diversidad genética de las ocho especies de osos actuales, que ilustra la importancia de estas técnicas en el monitoreo de las diferentes especies y/o poblaciones, especialmente al utilizarlas en el diseño de herramientas de manejo que ayuden a su conservación. Los objetivos de este artículo son: 1) explorar las relaciones taxonómicas y las diferencias reportadas a partir del uso de diferentes marcadores moleculares, 2) compilar trabajos publicados que han usado técnicas moleculares para entender cómo la variabilidad genética puede afectar la sobrevivencia de las poblaciones y las especies de osos y 3) presentar un panorama general acerca de la situación actual de los diferentes miembros de la Familia Ursidae y su conservación.

Taxonomía

Actualmente existen ocho especies vivientes de osos agrupadas en tres subfamilias: Ailuropodinae (panda gigante, *Ailuropoda melanoleuca*); Tremarctinae (oso de anteojos, *Tremarctos ornatus*) y Ursinae (oso gris, *Ursus arctos*; negro americano, *Ursus americanus*; polar, *Ursus maritimus*; negro asiático, *Ursus thibetanus*; bezudo, *Melursus ursinus*; y malayo, *Helarctos malayanus*; Wozencraft 1989; Thenius 1990; Yu *et al.* 2004a, b).

Los géneros *Melursus* y *Helarctos* algunas veces se incluyen dentro del género *Ursus* (Hall 1981; Nowak, 1991), mientras que el oso negro asiático, el oso polar y el oso negro americano han sido ubicados dentro de los géneros, *Selenarctos*, *Thalarctos* y *Euarctos*, respectivamente (Ewer 1973; Eisenberg 1981; Zhang y Ryder 1994), lo cual refleja la controversia taxonómica que existe dentro de este grupo de carnívoros.

El panda gigante es el úrsido que ha presentado la mayor discusión en su clasificación. Los científicos han debatido por más de un siglo su posición filogenética, al no saber si considerarlo como un oso o un prociónido (Familia Procyonidae, a la que también pertenece el mapache, *Procyon lotor*), e incluso algunos autores lo incluyen junto con el panda menor *Ailurus fulgens*) en su propia Familia, Ailuropodidae (Wurster-Hill y Bush, 1980; Tagle *et al.* 1986; Zhang y Shi 1991). Uno de los primeros intentos para determinar la posición taxonómica del panda gigante usando técnicas moleculares, se remonta a Leone y Wiens (1956), quienes a partir del análisis de enfoques serológicos, determinaron que esta especie es un pariente cercano de los osos. Igualmente, los análisis citológicos comparativos entre los miembros de la Familia Ursidae, mostraron que el patrón de bandeo de los cromosomas del panda gigante, es igual al patrón de bandeo

de los cromosomas del resto de los úrsidos, a pesar de que esta especie sólo cuenta con 42 cromosomas en comparación a los 52 cromosomas del oso de anteojos y a los 74 cromosomas de los seis miembros de la subfamilia Ursinae, lo cual se explica por fusión (algunos cromosomas acrocéntricos se han pegado con otros; Nash y O'Brien 1987; Nash *et al.* 1998; Tian *et al.* 2004).

El empleo de algunas técnicas moleculares como es el caso de la hibridación del ADN, las distancias genéticas de aloenzimas (Sarich 1973; O'Brien *et al.* 1985), las distancias genéticas usando electroforesis de proteínas de dos dimensiones (Goldman *et al.* 1989; O'Brien 1989) y la secuenciación de genes mitocondriales (Peng *et al.* 2007), han proveído un fuerte soporte de que el panda gigante comparte el mismo ancestro con todos los osos modernos, por lo tanto, actualmente la inclusión del panda gigante dentro de la familia de los osos es firme.

Análisis filogenéticos

El origen de la Familia Ursidae se remonta a inicios del Mioceno en Europa Subtropical, hace aproximadamente 20 millones de años, a partir de *Ursavus elemensis* (McLellan y Reiner 1994). Este oso presentaba una talla similar a la de un perro (< 50 kg) y desarrolló características de un oso en la constitución de los dientes, y aunque los premolares fueron como el de los cánidos, los dientes carnasiales se redujeron y fueron más parecidos al de los osos actuales y los molares evolucionaron en términos de expansión de la superficie de mordida (Middleton 1997; Hunt 1998).

A pesar de numerosos estudios paleontológicos y morfológicos realizados para los miembros de la Familia Ursidae, no existe un consenso sobre la historia evolutiva del grupo al abordar las cuestiones de las relaciones jerárquicas dentro de todos los miembros de esta familia.

El empleo de los análisis moleculares han demostrado que el panda gigante ha divergido de la línea más antigua (Nash y O'Brien 1987; Talbot y Shields 1996; Waits *et al.* 1999; Delisle y Strobeck 2002, Yu *et al.* 2004; Fulton y Strobeck 2006; Ohnishi *et al.* 2007; Yu *et al.* 2007; Krause *et al.* 2008), seguida por el oso de anteojos (Goldman *et al.* 1989; Waits *et al.* 1999; Zhang y Ryder 1993, 1994; Yu *et al.* 2004a; Krause *et al.* 2008). Estos nuevos resultados contrarrestan deducciones anteriores que afirmaban que el panda gigante y el oso de anteojos habrían divergido de una misma línea evolutiva (Talbot y Shields 1996).

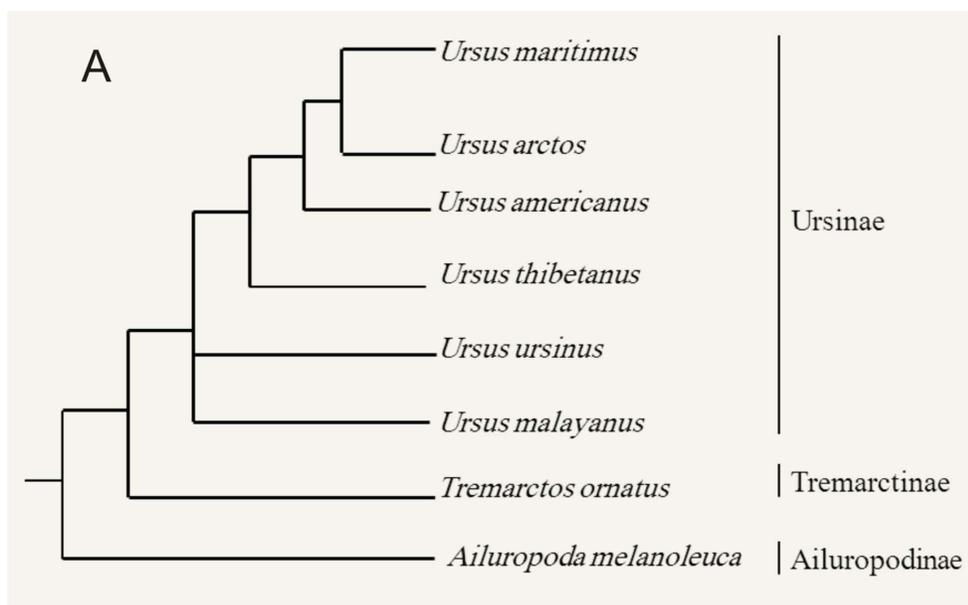
Por su parte, las seis especies de osos agrupadas en la subfamilia Ursinae, divergieron al comienzo del Plioceno en un rápido evento de radiación (Thenius 1990). Para reconstruir las relaciones filogenéticas de estas seis especies se han usado métodos inmunológicos (Goldman *et al.* 1989), de hibridación de ADN, datos de isoenzimas (O'Brien *et al.* 1985; Wayne *et al.* 1989), secuenciación del ADN mitocondrial (Shields y Kocher 1991; Zhang y Ryder 1993, 1994; Talbot y Shields 1996; Krause *et al.* 2008; Pagés *et al.* 2008), y análisis basados en genes nucleares (Yu *et al.* 2004a).

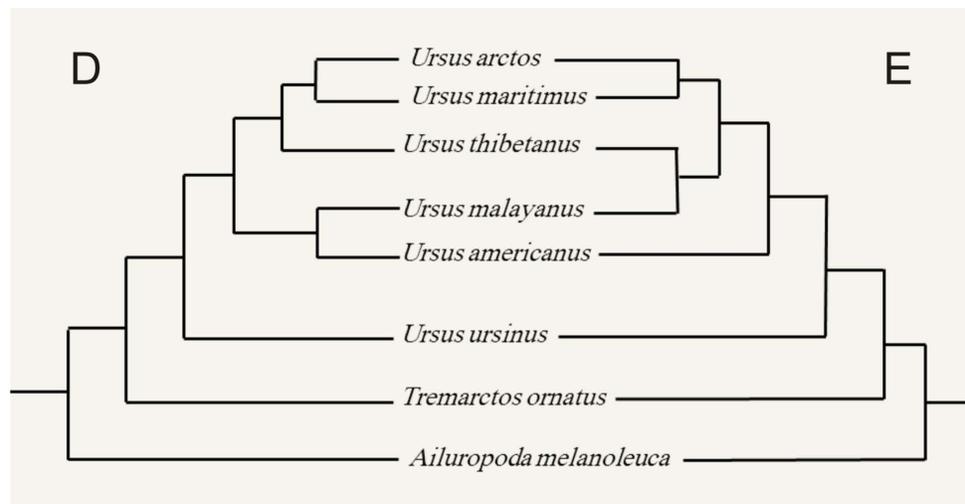
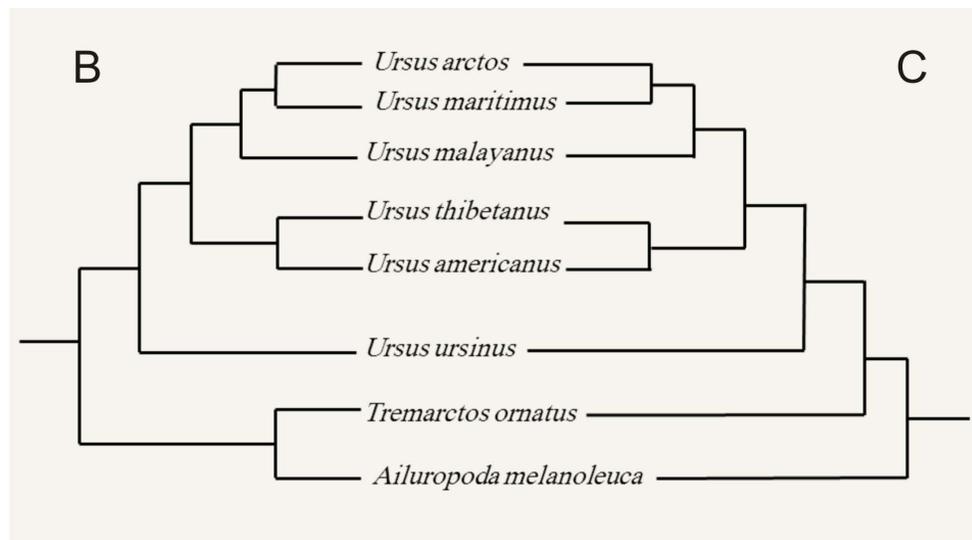
El análisis de 14 genes nucleares colocan al oso malayo y al oso bezudo como las especies más basales dentro de los ursinos (Fig. 1A; Pagés *et al.* 2008), pero en general se ha sugerido que el linaje del oso bezudo fue el primero en surgir formando un grupo monofilético (Figs. 1B-E; Zhang y Ryder 1993, 1994; Talbot y Shield 1996; Waits *et al.* 1999; Yu *et al.* 2004a; Krause *et al.* 2008). Además existe una discordancia en las

relaciones filogenéticas existentes entre el oso negro americano, el oso negro asiático y el oso malayo. Por un lado, resultados del análisis basados en datos de distancias genéticas, usando electroforesis de proteínas de dos dimensiones han determinado que el oso malayo y el oso negro asiático son especies hermanas (Fig. 1C; Goldman y Giri 1989), que en conjunto son especies hermanas del grupo que conforma el oso gris y el oso polar (Fig. 1C; Zhang y Ryder 1994; Waits *et al.* 1999). Por otro lado, resultados del análisis de genes mitocondriales y nucleares han sugerido que el oso negro americano y el oso malayo divergieron como taxones hermanos (Fig. 1B; Zhang y Ryder 1993; 1994). Sin embargo, otros estudios con un número mayor de marcadores nucleares sugieren que el oso negro americano está más relacionado con el oso negro asiático (Figs. 1D y E; Talbot y Shields 1996; Yu *et al.* 2004a; Hou *et al.* 2007 y Krause *et al.* 2008).

Estudios de ADN mitocondrial colocan al oso gris y al oso polar como grupos hermanos (Figs. 1A, B, C, D y E; Talbot y Shields 1996; Pagés *et al.* 2008), lo cual coincide con la evidencia fósil (McLellan y Reiner 1994), con la electroforesis de proteínas de dos dimensiones (Goldman *et al.* 1989) y con los análisis de genes mitocondriales y genes nucleares (Zhang y Ryder 1994; Talbot y Shields 1996; Waits *et al.* 1999; Yu *et al.* 2004a; Krause *et al.* 2008).

Figura 1. Relaciones filogenéticas de la Familia Ursidae inferidos a partir del uso de varios marcadores moleculares. (A), árbol filogenético construido a partir del análisis de 14 genes nucleares combinados siguiendo los métodos bayesianos, donde se postula que el oso malayo y el oso bezudo son las especies más basales de la subfamilia Ursinae y en donde las únicas especies hermanas son el oso gris y el oso polar (Pagés *et al.* 2008). (B), árbol más parsimonioso (MP) obtenido a partir del análisis de las secuencias de seis regiones del ADN mitocondrial [región control (CR), citocromo b (Cytb), 12S, rRNA, tRNA^{pro}, y tRNA^{thr}], que coloca al oso negro americano y al oso malayo como especies hermanas (Zhang y Ryder 1993, 1994). (C), árbol filogenético obtenido a partir de datos de distancias genéticas, usando electroforesis de proteínas de dos dimensiones que sugiere que el oso negro americano es ancestral al subgrupo de los osos negro asiático, gris y polar, además de colocar a los osos negro asiático y al oso malayo como grupos hermanos (Goldman y Giri 1989). (D), árbol construido a partir del análisis de la secuencia completa de los genes mitocondriales: citocromo b, tRNA^{thr} y tRNA^{pro}, que propone al panda gigante y al oso de anteojos como especies divergentes de una misma línea evolutiva (Talbot y Shields 1996). (E), árbol MP basado en el análisis de los aminoácidos del Cytb, y genes nucleares (IRBP y TTR; Yu *et al.* 2004a) y secuencias del citocromo b, tRNA^{thr} y tRNA^{pro}; Talbot y Shields 1996) en donde se aprecia que el oso negro americano está más relacionado con el oso negro asiático.





Diversidad Genética y conservación

La separación del ancestro de los osos en las ocho especies que existen en la actualidad ocurrió a lo largo de 20 millones de años (McLellan y Reiner 1994) debido a factores naturales de fragmentación y aislamiento. Sin embargo, desde mediados del siglo XX, las actividades antropogénicas han acelerado dramáticamente el proceso de fragmentación de algunas poblaciones de osos modernos, haciéndolas más vulnerables a factores demográficos y estocásticos ambientales así como factores genéticos, como la deriva génica y la endogamia, incrementando su riesgo de extinción (Taggart-Cowan 1972).

Los osos son especialmente vulnerables a cambios en su hábitat y de sus fuentes de alimento, por lo tanto son importantes indicadores de la calidad del medio ambiente y la salud del ecosistema en donde viven. Por ejemplo, el oso gris se ha usado para ver la calidad de los ecosistemas de la costa de los Estados Unidos. El oso panda considerado como especie clave para conservar las montañas del bosque templado en el suroeste de China. El oso de anteojos como especie sombrilla para conservar los paramos andinos y el bosque subtropical andino. Sin embargo, para planear programas de conservación es

necesario, entre otras cosas, conocer cuál es la situación actual de las especies respecto a su diversidad genética.

Los primeros intentos para medir la diversidad genética en las poblaciones de osos fueron realizados con aloenzimas y enzimas de restricción, los cuales expusieron bajos niveles de diversidad en algunas especies como por ejemplo en el panda gigante (Manlove *et al.* 1980; Wathen *et al.* 1985; Cronin *et al.* 1991; Shields y Kocher 1991).

Con el diseño y uso de marcadores nucleares más variables, el estudio de las poblaciones de osos ha aumentado considerablemente. Hasta el momento se han diseñados por lo menos 81 marcadores microsatélites polimórficos específicos para las diferentes especies de úrsidos, los cuales han revelado diferentes niveles de variación genética de acuerdo a las poblaciones y especies de estudio (Paetkau y Strobeck 1994; Paetkau *et al.* 1995; Taberlet *et al.* 1997; Kitahara *et al.* 2000; Shen *et al.* 2007; Shih 2009; Sanderlin *et al.* 2009; Wu *et al.* 2009). A continuación presentamos algunos detalles de los estudios de la diversidad genética por especie de oso.

Panda gigante

El panda gigante es la especie de oso considerada como una de las más vulnerables, se distribuye solamente en tres provincias de la República Popular de China: Sichuan, Shaanxi y Gansu y su hábitat se encuentran fragmentado en un promedio de 24 islas continentales (regiones montañosas), además, algunas de estas subpoblaciones no contienen más de 50 individuos (Loucks *et al.* 2001). Estas pequeñas y aisladas poblaciones enfrentan un gran riesgo de depresión endogámica, causando una baja diversidad genética, lo que a su vez disminuye la capacidad de la adaptación a cambios ambientales y subsecuentemente aumenta el riesgo extinción.

A partir del análisis basado en la electroforesis de proteínas, se han medido niveles bajos de variabilidad genética en el panda gigante (Su *et al.* 1994), estos niveles son comparables con los reportados para el análisis de secuencias de la región control del ADN mitocondrial (13 sitios variables fueron hallados en un total de 655 pb secuenciadas; Zhang *et al.* 1997, 2002), y el análisis en la secuencia del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II (ya que se encontraron siete alelos para el segmento DRB y seis para el segmento DQA; Wan *et al.* 2006; Zhu *et al.* 2007).

En contraparte, al evaluar otras secuencias de la región control y con el uso de microsatélites, se ha concluido que las poblaciones del panda gigante mantienen de una moderada a una considerable diversidad genética (p : 22% y H : 35%), en comparación con otros carnívoros en peligro de extinción (Lu *et al.* 2001). Esta mayor viabilidad genética fue comprobada con resultados del análisis de genes nucleares obtenidos por Zhang *et al.* (2007a), quienes observaron una alta variabilidad genética (56%) en las poblaciones de este úrsido.

Basados en estos estudios, la meta para el manejo de estos osos propone en el análisis de viabilidad de las poblaciones, una tasa de dispersión de al menos el 1% para que la diversidad genética actual se conserve en más del 90% en los próximos 100 años (Zhang *et al.* 2007b).

Oso de anteojos

El oso de anteojos es una especie endémica de los Andes, se distribuye desde el occidente

de Venezuela hasta Argentina, atravesando Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia. Es el único oso presente en América del Sur y a pesar de esto, su baja densidad, sus hábitos solitarios y su tendencia por áreas boscosas han hecho su estudio dificultoso. Hay pocos estudios ecológicos publicados y son con relación a su alimentación y su distribución (Peyton 1980; Yerena 1998; Paisley y Garshelis 2006; Ríos-Uzeda *et al.* 2006; Rivadeneira-Caned 2008), los estudios genéticos son aún más escasos (Varas and Viteri 2002; Ruíz-García 2003; Ruíz-García *et al.* 2005; Viteri y Waits 2009).

A partir del análisis de genes nucleares (microsatélites) se ha concluido que el oso de anteojos presenta bajos niveles de diversidad genética en comparación a otros carnívoros neotropicales. El valor de heterocigocidad encontrado en las poblaciones de Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú fue del 40%-43%, en contraparte a la población de Venezuela que presenta un ligero aumento de diversidad (57%). Estos datos se deben principalmente al poco flujo génico que existe como consecuencia de un extremo aislamiento entre poblaciones (Ruíz-García 2003; Ruíz-García *et al.* 2005). Además, la cacería furtiva, la conversión de bosques andinos a tierras de agricultura han puesto a este oso en seria amenaza. Información sobre variabilidad genética, así como el intercambio genético entre poblaciones, va a permitir a las entidades a cargo de su manejo el tomar decisiones sobre las áreas que necesitan protección y así como la creación de los corredores necesarios, para asegurar la conservación del oso de anteojos y su hábitat.

El oso negro americano

El oso negro americano es una de las especies de úrsidos mayormente estudiados a lo largo de su área de distribución, a excepción de México en donde su conocimiento es muy limitado. A partir del análisis de *fingerprinting*, enzimas de restricción y secuencias de genes mitocondriales (región control y citocromo b) se han identificado dos grupos en el noroeste de Norte América. Un primer linaje se distribuye desde el sureste de Alaska hasta el norte de California y el segundo se extiende desde el interior de Alaska hacia el sur en Oregón y Nuevo México y del este de Terranova a Florida (Cronin *et al.* 1991; Paetkau y Strobeck, 1996; Byun *et al.* 1997; Wooding y Ward 1997; Stone y Cook 2000).

Estimaciones de la variabilidad genética usando proteínas, muestran variaciones en su heterocigocidad, por ejemplo se encontró un bajo nivel en Alaska (0%), California (3%), Maine (0%), Montana (1.3%), Tennessee (1.5%) y un mayor nivel de heterocigocidad entre la frontera de Tennessee y Carolina del Norte (8%) en Estados Unidos (Manlove *et al.* 1980; Wathen *et al.* 1985). El análisis de microsatélites ha reflejado igualmente una variación en el nivel de variabilidad genética, de baja a moderada en el noroeste de Florida (27%; Dixon *et al.* 2007), Terranova, Canadá (36%; Paetkau y Strobeck 1994), Isla de Kodiak, Alaska (36%; Paetkau y Strobeck 1997), Mobile River Basin, Alabama (31.6%; Edwards, 2002), en el límite entre Alabama y Mississippi (38%-42%; Warrillow *et al.* 2001); una mediana variabilidad en la costa central y sur de California (41%-48%; Brown *et al.* 2009), este de Utah (52.9%; Sinclair *et al.* 2003), Georgia (50%; Sanderlin *et al.* 2009), noreste y parte de la costa de Louisiana (42% - 54%; Csiki *et al.* 2003; Triant *et al.* 2004) y noreste de Minnesota (54 %; Warrillow *et al.* 2001) en los Estados Unidos. Se ha detectado una alta diversidad genética (80%) en las poblaciones de oso negro americano distribuidas al sur de Quebec, suroeste de Alberta (Paetkau y Strobeck, 1994) y costa media y sureste de la Columbia Británica en Canadá (62%-81%; Woods *et al.* 1999; Marshall y Ritland 2002),

así como en el oeste de Arkansas (72.8%; Csiki *et al.* 2003), norte de Wisconsin ($\geq 0.77\%$; Belant *et al.* 2005), norte de Idaho (79%; Cushman *et al.* 2006), norte de Florida (71%; Dixon *et al.* 2007) y costa norte de California (63%; Brown *et al.* 2009), Estados Unidos, al igual que entre el límite de Coahuila, México y oeste de Texas, Estados Unidos (71.7%; Onorato *et al.* 2007).

Esta diversidad se debe en gran medida a las diferencias en la estructura genética espacial de las poblaciones, el desarrollo residencial, el número de carreteras, elevación y cobertura de los bosques cuando los osos se mueven en primavera (movimiento de apareamiento), el nivel de movimiento de genes, etc (Cushman y Lewis 2010). En general el oso negro ha demostrado una gran capacidad de dispersión, se pueden mover amplias distancias evitando de esta manera la endogamia (Maehr *et al.* 1998; Lee y Vaughan, 2003, Costello *et al.* 2008), permitiendo que exista un flujo génico entre poblaciones, aún en presencia de barreras geográficas (Cushman *et al.* 2006; Schwartz *et al.* 2006; Varas *et al.* 2007), e inclusive se ha registrado la recolonización de áreas en donde esta especie había sido extirpada a mediados del siglo pasado, formando una metapoblación (Onorato *et al.* 2004, 2007).

Oso gris

El oso gris es el úrsido más ampliamente distribuido, sin embargo, en los últimos años ha declinado su intervalo de distribución que abarcaba América del Norte desde Canadá hasta el norte de México; Europa hasta Asia y norte de África (Servheen *et al.* 1999).

El análisis del ADN mitocondrial ha documentado que debido a los cambios climáticos suscitados durante el Pleistoceno. Las poblaciones de oso gris se aislaron, estructurando sus poblaciones y formando seis líneas evolutivas independientes. El grupo I comprende las poblaciones que viven exclusivamente en tres Islas costeras de Alaska (Admiralty, Baranof y Chichagof); el grupo II incluye a aquellas poblaciones que viven en Europa oriental y en el Estrecho de Bering; el grupo III comprende a los osos que viven en el este de Alaska y el norte de Canadá; el grupo IV incluye a los osos que viven en el sur de Canadá y cinco poblaciones de Estados Unidos, en donde actualmente quedan como poblaciones relictas; el grupo V comprende las poblaciones asentadas en Europa occidental; y por último en el grupo VI se incluye a las poblaciones extintas de oso gris que habitaban en el norte de África en las Montañas Atlas (Taberlet y Bouvet 1994; Talbot y Shields 1996; Taberlet *et al.* 1997; Waits *et al.* 1998; Pääbo 2000; Emerson y Hewitt 2005; Calvignac *et al.* 2008). En América del Norte se ha detectado un alto porcentaje de secuencia divergente entre haplotipos (4.3%) para el oso gris (Waits *et al.* 1998).

En Europa occidental, estudios usando secuencias del ADN mitocondrial han mostrado que las poblaciones relictas de oso gris son monomórficas y están estructuradas filogeográficamente (Randi *et al.* 1994; Taberlet y Bouvet 1994). Se ha documentado que las poblaciones de oso gris de Abruzzo, Trentino (Centro y Norte de Italia respectivamente) y Croacia son monomórficas dentro de las poblaciones y comparten el mismo haplotipo de citocromo b (Gentile 1994). Lo que refleja una baja diversidad genética en comparación al número promedio de alelos por locus (6.6) encontrado en la población de la Bahía de Prudhoe en Alaska (Cronin *et al.* 1999). Por otro lado, la región control es más variable, ya que la población de Abruzzo tiene su propio haplotipo y los osos de Croacia son polimórficos con dos haplotipos (Gentile 1994).

Información obtenida del análisis de microsatélites, revela que la diversidad genética de las poblaciones Ibéricas presenta bajos niveles de heterocigocidad (32%; García-Garitagoitia 2003), esto debido a que dichas poblaciones se encuentran sumamente fragmentadas y aisladas. En contraste, ha sido reportado que la población de oso gris de Escandinavia, conserva niveles altos de diversidad genética (66.5%). Valores que son sorprendentes debido a que existió un intento de exterminio que redujo el tamaño de la población a un promedio de 35 osos por subpoblación hace siete generaciones (Waits *et al.* 2000).

Las poblaciones Asiáticas de oso gris reflejan una baja diversidad genética nuclear en comparación a las poblaciones de algunas regiones de Canadá y Estados Unidos. Por ejemplo, la heterocigocidad presente en determinadas poblaciones de Japón varió de 24% a 30% (Tsuruga *et al.* 1994) y en Pakistán fue del 55.7% (Bellemain *et al.* 2007). En contraparte, la población de Pakistán, presenta valores similares e inclusive mayores a los niveles de heterocigocidad reportados para otras poblaciones de Estados Unidos (Paetkau *et al.* 1998) y Europa (Taberlet *et al.* 1997; García-Garitagoitia, 2003).

Con respecto a América del Norte, se han detectado valores altos de diversidad genética en la región Circumpolar de Alaska y Canadá (61%-77%; Craighead *et al.* 1995; Paetkau *et al.* 1998; Cronin *et al.* 1999, 2005), así como en el sur de Alaska (70%) y suroeste de Canadá (78.8%). Por otro lado, se reportan los valores más bajos de diversidad en la población de Yellowstone (55%) y en el Archipiélago de Kodiak (26%-29%; Paetkau *et al.* 1998).

Oso polar

El oso polar presenta una distribución circumpolar y se mueve en los mares congelados del hemisferio norte. Los estudios genéticos han mostrado que este oso presenta altos niveles de flujo génico a lo largo de miles de kilómetros, por lo que no existe una significativa estructura genética (Paetkau *et al.* 1995, 1999; Cronin *et al.* 2006; Crompton *et al.* 2008). Al igual que las otras especies de úrsidos, el oso polar presenta valores de variación proteínica prácticamente indetectables (Allendorf *et al.* 1979; Manlove *et al.* 1980; Larsen *et al.* 1983), pero una mayor variación en el ADN mitocondrial (Cronin *et al.* 1991). En particular en el Ártico Canadiense, el análisis de microsatélites, ha arrojado una moderada diversidad genética en las poblaciones del oso polar (60%-66.5%; Paetkau *et al.* 1995; Crompton *et al.* 2008).

Oso negro asiático

La información genética sobre el oso negro asiático es muy limitada. Este carnívoro habita en áreas fragmentadas y aisladas que van desde el sureste de Irán hasta Japón (Japan Bear Network 2006). El estudio genético de microsatélites de ADN, reveló que existe una mayor diversidad genética en las poblaciones del este de Japón (44.5 %) en comparación a las poblaciones presentes en el oeste (27 %; Shaitoh *et al.* 2001). Así mismo, se ha reportado una diversidad genética en la isla principal del archipiélago japonés de Honshu del 43% al 64% (Ohnishi *et al.* 2007).

En este sentido, a partir de la secuenciación de la región control del ADN mitocondrial, se ha podido determinar que las poblaciones del oso negro asiático del oeste de Japón presentan una menor diversidad haplotípica en comparación a las poblaciones

del este, confirmándose la existencia de dos líneas evolutivas independientes (Ishibashi y Saitoh 2004; Yasukochi *et al.* 2008). Además, a partir de los resultados obtenidos del análisis de la secuenciación del ADN mitocondrial de tres subespecies de oso negro asiático (*ussuricus*, *formosanus* y *mupinensis*), se demostró que la región *D1* de la región control es lo suficientemente informativa como para detectar individuos dentro de las tres subespecies, por lo que esta región podría ser usada en otras poblaciones donde hay dudas sobre la identidad de los osos migrantes (Hwang *et al.* 2008). Con respecto a los demás países en donde se distribuye esta especie no se cuenta con información genética.

Oso bezudo y oso malayo

Actualmente no existe información que nos permita conocer la situación actual referente a la diversidad genética de los osos malayo y bezudo. El conocer en gran medida la diversidad genética y estructura genética de las poblaciones de estos osos, permitirá tomar decisiones correctas en la translocación de individuos de una población a otra (Taberlet y Bouvet 1994; Miller *et al.* 1998; Triant *et al.* 2004), así como el diseño de corredores biológicos para el flujo génico efectivo entre poblaciones contiguas (Dixon *et al.* 2007), para la conservación a largo plazo de estos carnívoros.

Conclusiones

Dependiendo de la naturaleza de las técnicas moleculares empleadas en la jerarquización de los miembros de la familia de los osos, son los resultados obtenidos, presentando en ocasiones contradicciones en su taxonomía.

Todos los estudios consultados en este trabajo que se han basado en técnicas moleculares, soportan tres grupos. El linaje más antiguo es el del panda gigante, seguido por el grupo que originó al oso de anteojos, y por último aparece una divergencia politípica que culminó con la aparición de los miembros de la subfamilia Ursinae. Igualmente se confirma que los osos polar y gris son grupos hermanos. Sin embargo, en donde no existe un consenso real en la taxonomía de sus especies, es dentro de la subfamilia Ursinae, ya que como se evidenció anteriormente, la posición de algunos de sus grupos internos cambia dependiendo del poder de resolución del análisis genético empleado.

En cuanto a los estudios sobre variabilidad genética, los primeros intentos por medir la diversidad genética en las poblaciones de osos se hicieron con aloenzimas y enzimas de restricción, reflejando en general bajos niveles de variación genética en todas las poblaciones de osos evaluadas. Sin embargo, recientemente, con el diseño de nuevos marcadores nucleares altamente variables (microsatélites) que se han aplicado a los estudios de diversidad genética en estos carnívoros, se ha puesto en manifiesto una considerable variación genética. En estudios recientes usando análisis de “genética del paisaje” y regresiones logísticas condicionales, se demostró consistentemente que los factores del paisaje influyen directamente en las decisiones de cuando y donde mover a algunos individuos, y esto a su vez afecta directamente el grado de variabilidad genética.

A partir del uso de estos marcadores moleculares, tenemos que el panda gigante presenta una considerable diversidad genética, por lo que a esta especie de oso podría no considerársele como una especie sin salida evolutiva. Además, una gran cantidad de datos de secuencias mitocondriales están ahora disponibles para varias especies de osos, principalmente para algunas poblaciones de América del Norte, mientras que existe una

evidente falta de datos para los osos de América del Sur y para otros continentes. Un obstáculo importante para la obtención de estos datos es el alto costo y el esfuerzo de la recogida de muestras del ADN. Este obstáculo es parcialmente reducido con el avance de la tecnología molecular, por ejemplo, ahora que se han desarrollado técnicas para aislar el ADN de muestras de pelo y/o heces recolectadas en el campo, se puede evaluar en un futuro a corto plazo la diversidad genética de las poblaciones de estos úrsidos.

Los osos son animales carismáticos que en muchos lugares se han convertido en la bandera de conservación, por ejemplo el oso de anteojos, como bandera de conservación de paramos y bosques andinos. El oso polar, para educar al público sobre el cambio climático y el derretimiento del hielo polar. El panda gigante, para la conservación de los bosques de bambú. El oso negro asiático, como bandera de conservación de las áreas montañosas de China, etc. Debido a que los osos tienen grandes requerimientos ecológicos tanto en su área de vida como a las diferentes funciones que desempeñan, se han convertido en especies claves para promover la conservación de una gran variedad de ecosistemas y de sus recursos naturales asociados.

Por un lado, el carisma de los osos y su conexión cultural con las diversas comunidades donde habitan, han convertido a los osos en especies únicas para iniciar procesos de diálogo entre las comunidades y las entidades encargadas del manejo de las áreas. Por otro lado, los investigadores estamos haciendo nuestra parte presentando la información científica necesaria en cuanto a los factores ecológicos y genéticos, para entender la situación actual que presentan las diferentes poblaciones. De esta manera será posible el poner en marcha programas de conservación basados en información científica, que permitan la sobrevivencia a largo plazo de estos majestuosos mamíferos.

Referencias

- ALLENDORF, F. W., F. B. CHRISTIANSEN, T. DOBDON, W. F. EANES, Y O. FRYDENBERG. 1979. Electrophoretic variation in large Mammals. The polar bear, *Thalarctos maritimus*. *Hereditas* 91:19-22.
- BELANT, J. L., J. F. VAN-STAPPEN, Y D. PAETKAU. 2005. American black bear population size and genetic diversity at Apostle Islands National Lakeshore. *Ursus* 16:85-92.
- BELLEMMAIN, E., M. A. NAWAZ, A. VALENTINI, J. E. SWENSON, Y P. TABERLET. 2007. Genetic tracking of the brown bear in Northern Pakistan and implications for conservation. *Biological Conservation* 134:537-547.
- BENVENISTE, R. E., D. N. JANCZEWSKI, Y S. J. O'BRIEN. 1989. Molecular and biochemical evolution of the Carnivora. Pp. 465-494 in *Carnivore Behavior, Ecology and Evolution* (Gittleman, J. L., ed.). Cornell University Press.
- BOERSEN, M. R., J. D. CLARK, Y T. L. KING. 2003. Estimating black bear population density and genetic diversity at Tensas River; Louisiana using microsatellite DNA markers. *Wildlife Society Bulletin* 31:197-207.
- BROWN, S. K., J. M. HULL, D. R. UPDIKE, S. R. FAIN, Y H. B. ERNEST. 2009. Black bear population genetics in California: signatures of population structure, competitive release, and historical translocation. *Journal of Mammalogy* 90:1066-1074.
- BYUN, S. A., B. K. KOOP, Y T. E. REIMCHEN. 1997. North American black bear mtDNA phylogeography: implications for morphology and the Haida Gwaii glacial refugium

- controversy. *Evolution* 51:1647-1653.
- CALVIGNAC, S. S. HUGHES, C. TOUGARD, J. MICHAUX, M. THEVENOT, M. PHILIPPE, W. HAMDINE, Y C. HÄNNI. 2008. Ancient DNA evidence for the loss of a highly divergent brown bear clade during historical times. *Molecular Ecology* 17:1962-1970.
- COSTELLO, C. M., S. R. CREEL, S. T. KALINOWSKI, N. V. VU, Y H. B. QUIGLEY. 2008. Sex-biased natal dispersal and inbreeding avoidance in American black bears as revealed by spatial genetic analyses. *Molecular Ecology* 17:4713-4723.
- CRAIGHEAD, L., D. PAETKAU, H. V. REYNOLDS, E. R. VYSE, Y C. STROBECK. 1995. Microsatellite analysis of paternity and reproduction in Arctic grizzly bears. *Journal of Heredity* 86:255-26.
- CROMPTON, A. E., M. E. OBBARD, S. D. PETERSEN, Y P. J. WILSON. 2008. Population genetic structure in polar bears (*Ursus maritimus*) from Hudson Bay, Canada: implication of future climate change. *Biological Conservation* 141:2528-2539.
- CRONIN, M. A., R. SHIDELER, J. HECHTEL, C. STROBECK, Y D. PAETKAU. 1999. Genetic relationships of grizzly bears (*Ursus arctos*) in the Prudhoe Bay region of Alaska: inference from microsatellite DNA, mitochondrial DNA, and field observations. *Journal of Heredity* 90:622-628.
- CRONIN, M. A., S. C. AMSTRUP, Y K. T. SCRIBNER. 2006. Microsatellite DNA and mitochondrial DNA variation in polar bear (*Ursus maritimus*) from the Beaufort and Chukchi Seas, Alaska. *Canadian Journal of Zoology* 84:655-660.
- CRONIN, M. A., S. C., AMSTRUP, G. W. GARNER, Y E. R. VYSE. 1991. Interspecific and intraspecific mitochondrial DNA variation in North American bears (*Ursus*). *Canadian Journal of Zoology* 69:2985-2992.
- CRONIN, M., R. SHIDELER, L. WAITS, Y R. J. NELSON. 2005. Genetic variation and relatedness in grizzly bears in the Prudhoe Bay region and adjacent areas in Northern Alaska. *Ursus* 16:70-84.
- CSIKI, I., C. LAM, A. KEY, E. COULTER, J. D. CLARK, R. M. PACE, K. G. SMITH, Y D. D. RHOADS. 2003. Genetic variation in black bears in Arkansas and Louisiana using microsatellite DNA markers. *Journal of Mammalogy* 84:691-701.
- CUSHMAN, S. A., K. S. MCKELVEY, J. HAYDEN, Y M. K. SCHWARTZ. 2006. Gene flow in complex landscapes: testing multiple hypotheses with causal modeling. *The American Naturalist* 168:486-499.
- CUSHMAN, S. A., Y J. S. LEWIS. 2010. Movement behavior explains genetic differentiation in American black bears. *Landscape Ecology* 25:1613-1625.
- DELISLE, I., Y C. STROBECK. 2002. Conserved primers for rapid sequencing of the complete mitochondrial genome from carnivores, applied to three species of bears. *Molecular Biology and Evolution* 19:357-361.
- DIXON, J. D., M. K. OLI, M. C. WOOTEN, T. H. EASON, J. W. MCCOWN, Y M. W. CUNNINGHAM. 2007. Genetic consequences of habitat fragmentation and loss: the case of the Florida black bear (*Ursus americanus floridanus*). *Conservation Genetics* 8:455-464.
- EDWARDS, A. S. 2002. Ecology of the black bear (*Ursus americanus floridanus*) in southwestern Alabama. Tesis de Maestría, Universidad de Tennessee.
- EILER J. H., W. G. WATHEN, Y M. R. PELTON. 1989. Reproduction in black bears in the Southern Appalachian Mountains. *Journal of Wildlife and Management* 53:353-

360.

- EISENBERG, J. F.** 1981. The mammalian Radiations. University of Chicago Press, Chicago.
- EMERSON, B. C., Y G. M. HEWITT.** 2005. Phylogeography. *Current Biology* 15:367–371.
- EWER, R. F.** 1973. The Carnivora. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- FREEDMAN, A. H., K. M. PORTIER, Y M. E. SUNQUIST.** 2003. Life history analysis for black bears (*Ursus americanus*) in a changing demographic landscape. *Ecological Modeling* 167:47-64.
- FULTON, T. L., Y C. STROBECK.** 2006. Molecular phylogeny of the Arctoidea (Carnivora): effect of missing data on super tree and super matrix analyses of multiple gene data sets. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 41:165-181.
- GARCÍA-GARITAGOITIA, J. L., I. R. FRAILE, Y I. D. VILLAREJO.** 2003. Estudio genético del oso pardo cantábrico en Asturias. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Museo Nacional de Ciencias Naturales y Consejería de Medio Ambiente, Ordenación del Territorio e Infraestructuras.
- GOLDMAN D., P. R. GIRI, Y S. J. O'BRIEN.** 1989. Molecular genetic-distance estimates among the Ursidae as indicated by one- and two-dimensional protein_electrophoresis. *Evolution* 43:282-295.
- HALL, R. E.** 1981. The Mammals of North America. John Wiley and Sons.
- HILDERBRAND, G. V., S. D. FARLEY, C. T. ROBBINS, T. A. HANLEY, K. TITUS, Y C. SERVHEEN.** 1996. Use of stable isotopes to determine diets of living and extinct bears. *Canadian Journal of Zoology* 74:2080-2088.
- HOU, W., Y. CHEN, X. WU, J. HU, Z. PENG, J. YANG, Z. TANG, C. ZHOU, Y. LI, S. YANG, Y. DU, L. KONG, Z. REN, H. ZHANG, Y S. SHUAI.** 2007. A complete mitochondrial genome sequence of Asian black bear Schuan subspecies (*Ursus thibetanus mupinensis*). *International Journal of Biological Sciences* 3:85-90.
- HUNT, R. M.** 1998. Ursidae. Pp. 174-195 in *Evolution of Tertiary mammals of North America Vol. 1: Terrestrial Carnivores, Ungulates, and Ungulate like Mammals: (Janis, C. M., K. M. Scott, y L. L. Jacobs, eds.)*. New York: Cambridge University Press.
- HWANG, D-S., J-S. KI, D-H. JEONG, B-H. KIM, B-K. LEE, S-H. HAN, Y J-S. LEE.** 2008. A comprehensive analysis of three Asiatic black bear mitochondrial genomes (subspecies *ussuricus*, *formosanus* and *mupinensis*), with emphasis on the complete mtDNA sequence of *Ursus thibetanus ussuricus* (Ursidae). *Mitochondrial DNA* 19:418-429.
- ISHIBASHI, Y., Y T. SAITOH.** 2004. Phylogenetic relationships among fragmented Asian black bear (*Ursus Thibetanus*) populations in Western Japan. *Conservation Genetics* 5:311-323.
- JAPAN BEAR NETWORK (COMPILER).** 2006. Understanding Asian Bears to Secure Their Future. Japan Bear Network, Ibaraki, Japón.
- KITAHARA, E., Y. ISAGI, Y. ISHIBASHI, Y T. SAITOH.** 2000. Polymorphic microsatellite DNA markers in the Asiatic black bear *Ursus thibetanus*. *Molecular Ecology* 9:1661–1662.
- KRAUSE, J., T. UNGER, A. NOCON, A. MALASPINAS, S. KOLOKOTRONIS, M. STILLER, L. SOIBELZON, H. SPRIGGS, P. H. DEAR, A. W. BRIGGS, S. C. E. BRAY, S. J. O'BRIEN, G. RABEDER, P. MATHEUS, A. COOPER, M. SLATKIN, S. PÄÄBO, Y M. HOFREITER.** 2008. Mitochondrial genomes reveal an explosive radiation of extinct and extant bears near the Miocene-Pliocene

- boundary. *BMC Evolutionary Biology* 8:1-12.
- LARSEN, T., H. TEGELSTROM, K. JUNEJA, Y M. K. TAYLOR. 1983. Low protein variability and genetic similarity between populations of the polar bear (*Ursus maritimus*). *Polar Research* 1:97-105.
- LEE, D. J., Y M. R. VAUGHAN. 2003. Dispersal movements by subadult American black bears in Virginia. *Ursus* 12:162-170.
- LEONE, C. A., Y A. L. WIENS. 1956. Comparative serology of Carnivores. *Journal of Mammalogy* 37, 11-23.
- LOUCKS, C. J., Z. LÜ, E. DINERSTEIN, H. WANG, D. M. OLSON, C. ZHU, Y D. WANG. 2001. Giant pandas in a changing landscape. *Science* 294:1465.
- LU, Z., W. E. JOHNSON, M. MENOTTI-RAYMOND, N. YUHKI, J. MARTENSON, S. MAINKA, H. SHI-QIANG, Z. ZHIHE, G. LI, W. PAN, X. MAO, Y S. J. O'BRIENT. 2001. Patterns of genetic diversity in remaining giant panda populations. *Conservation Biology* 15:1596-1607.
- MAEHR, D. S., J. E. LAYNE, E. D. LAND, J. W. MCCOWN, Y J. ROOF. 1998. Long distance movements of a Florida black bear. *Florida Field Naturalist* 16:1-16.
- MANLOVE, M. N., R. BACCUS, M. R. PELTON, M. H. SMITH, Y D. GRABER. 1980. Biochemical variation in the black bear. *Bears-their Biology and Management* 37-41.
- MARSHALL, H. D., Y K. RITLAND. 2002. Genetic diversity and differentiation of Kermode bear populations. *Molecular Ecology* 11:685-697.
- MCLELLAN, B., Y D. C. REINER. 1994. A Review of bear evolution. *International Conference in the Bear, Research and Management* 9:85-96.
- MIDDLETON, D. 1997. The evolution of bears. En: *The Bear*. <http://www.nature-net.com/bears/evolve.html>.
- MILLER, D. A., E. M. HALLERMAN, M. R. VAUGHAN, Y J. W. KASBOHM. 1998. Genetic variation in black bear populations from Louisiana and Arkansas: examining the potential influence of reintroductions from Minnesota. *Ursus* 10:335-341.
- NASH, W. G., J. WIENBERG, M. A. FERGUSON-SMITH, J. C. MENNINGER, Y S. J. O'BRIEN. 1998. Comparative genomics: tracking chromosome evolution in the family Ursidae using reciprocal chromosome painting. *Cytogenetics and Cell Genetics* 83:182-192.
- NASH, W. G., Y S. J. O'BRIEN. 1987. A Comparative chromosome banding analysis of the Ursidae and their relationship to other carnivores. *Cytogenetic Cell Genet* 45:206-212.
- NOWAK, R. M. 1991. *Walker's Mammals of the World*, quinta edición. Vol. 2. 1083-1104 p. Johns Hopkins. University Press, Baltimore, London.
- NOYCE, K. V., Y GARSHELIS. 1997. Influence of natural food abundance on black bear harvest in Minnesota. *Journal of Wildlife and Management* 61:1067-1074.
- O'BRIEN, S. J., W. G. NASH, D. E. WILDT, M. E. BUSH, Y R. E. BENVENISTE. 1985. A molecular solution to the riddle of the giant panda's phylogeny. *Nature, London* 317:140-144.
- OHNISHI, N., T. SAITOH, Y. ISHIBASHI, Y T. OI. 2007. Low genetic diversities in isolated populations of the Asian black bear (*Ursus thibetanus*) in Japan, in comparison with large stable populations. *Conservation Genetics* 8:1331-1337.
- ONORATO, D. P., E. C. HELLGREN, R. A. VAN DEN BUSSCHE, D. L. DOAN-CRIDER, Y J. R. SKILES. 2007. Genetic structure of American black bears in the desert Southwest of North America: conservation implications for recolonization. *Conservation Genetics*

8:565-576.

- ONORATO, D. P., E. C. HELLGREN, R. A. VAN DEN BUSSCHE, Y D. L. DOAN-CRIDER.** 2004. Phylogeographic patterns within a metapopulation of black bears (*Ursus americanus*) in the American Southwest. *Journal of Mammalogy* 85:140-147.
- PÄÄBO, S.** 2000. Of Bears, conservation genetics, and the value of time travel. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:1320-1321.
- PAETKAU D., Y C. STROBECK.** 1994. Microsatellite analysis of genetic variation in black bear population. *Molecular Ecology* 3:489-495.
- PAETKAU, D., Y C. STROBECK.** 1996. Mitochondrial DNA and the phylogeography of Newfoundland black bears. *Canadian Journal of Zoology* 74:192-196.
- PAETKAU, D., W. CALVERT, I. STIRLING, Y C. STROBECK.** 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4:347-354.
- PAETKAU, D., L. WAITS, P. CLARKSON, L. CRAIGHEAD, Y C. STROBECK.** 1997. An empirical evaluation of genetic distance statistics using microsatellite data from bear (Ursidae) populations. *Genetics* 147:1943-1957.
- PAETKAU, D., L. P. WAITS, P. CLARKSON, L. CRAIGHEAD, E. VYSE, R. WARD, Y C. STROBECK.** 1998. Variation in genetic diversity across the range of North American brown bears. *Conservation Biology* 12:418-429.
- PAETKAU, D., S. C. AMSTRUP, E. W. BORN, W. CALVERT, A. E. DEROCHER, G. D. GARNER, F. MESSIER, L. STIRLING, M. K. TAYLOR, Q. WIIG, Y C. STROBECK.** 1999. Genetic structure of the world's polar bear population. *Molecular Ecology* 8:1571-1584.
- PAGÉS, M., S. CALVIGNAC, C. KLEIN, M. PARIS, S. HUGHES, Y C. HÄNNI.** 2008. Combined analysis of fourteen nuclear genes refines the Ursidae phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47:73-83.
- PAGÉS, M., S. CALVIGNAC, C. KLEIN, M. PARIS, S. HUGHES, Y C. HÄNNI.** 2008. Combined analysis of fourteen nuclear genes refines the Ursidae phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 47:73-83.
- PAISLEY, S., Y D. L. GARSHELIS.** 2006. Activity patterns and time budgets of Andean bears (*Tremarctos ornatus*) in the Apolobamba Range of Bolivia. *Journal of Zoology* 268:25-34.
- PENG, R., B. ZENG, X. MENG, B. YUE, Z. ZHANG, Y F. ZOU.** 2007. The complete mitochondrial genome and phylogenetic analysis of the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *Gene* 397:76-83.
- PEYTON, B.** 1980. Ecology, distribution and food habitats of spectacled bears, *Tremarctos ornatus*, in Peru. *Journal of Mammalogy* 61:639-652.
- RANDI, E., L. GENTILE, G. BOSCAGLI, D. HUBER, Y H. U. ROTH.** 1994. Mitochondrial DNA sequence divergence among some West European brown bear (*Ursus arctos* L.) populations. Lessons for conservation. *Heredity* 73:480-489.
- RÍOS-UZEDA, B., H. GÓMEZ, Y R. B. WALLACE.** 2006. Habitat preferences of the Andean bear (*Tremarctos ornatus*) in the Bolivian Andes. *Journal of Zoology* 268:271-278
- RIVADENEIRA-CANED, C.** 2008. Estudio del oso andino (*Tremarctos ornatus*) como dispersor legítimo de semillas y elementos de su dieta en la región de Apolobamba-Bolivia. *Ecología en Bolivia* 43:29-39.
- RUÍZ-GARCÍA, M.** 2003. Molecular population genetic analysis of the spectacled bear (*Tremarctos ornatus*) in the Northern Andean area. *Hereditas* 138:81-93.

- RUÍZ-GARCÍA, M., P. OROZCO-WENGEL, A. CASTELLANOS, Y L. ARIAS.** 2005. Microsatellite analysis of the spectacled bear (*Tremarctos ornatus*) across its range distribution. *Genes and Genetic Systems* 80:57-69.
- SAITOH, T., Y. ISHIBASHI, H. KANAMORI, Y E. KITAHARA.** 2001. Genetic status of fragmented populations of the Asian black bear *Ursus thibetanus* in Western Japan. *Population Ecology* 43:221-227.
- SAMSON, C., Y J. HUOT.** 2001. Spatial and temporal interactions between female American black bears in mixed forests of Eastern Canada. *Canadian Journal of Zoology* 79:633-641.
- SANDERLIN, J. S., B. C. FAIRCLOTH, B. SHAMBLIN, Y M. J. CONROY.** 2009. Tetranucleotide microsatellite loci from the black bear (*Ursus americanus*). *Molecular Ecology Resources* 9:288-291.
- SARICH, V. M.** 1973. The giant panda is a bear. *Nature* 245:218-220.
- SCHWARTZ, M. K., S. A. CUSHMAN, K. S. MCKELVEY, J. HAYDEN, Y C. ENKJER.** 2006. Detecting genotyping errors and describing American black bears movement in Northern Idaho. *Ursus* 17:138-148.
- SERVHEEN, C., S. HERRERO, Y B. PEYTON.** 1999. Bears. Status survey and conservation Action Plan. IUCN/SSC Bear and polar Bear Specialist Groups IUCN, Gland, Suzie y Cambridge, UK.
- SHEN, F., P. C. WATTS, W. H. ZHANG, A. ZHANG, S. SANDERSON, S. J. KEMP, Y B. YUE.** 2007. Di-, tri- and tetranucleotide microsatellite loci for the giant panda, *Ailuropoda melanoleuca*. *Molecular Ecology notes* 7:1268-1270.
- SHIELDS, G. F., Y T. D. KOCHER.** 1991. Phylogenetic relationships of North American Ursids based on analysis of mitochondrial DNA. *Evolution* 45:218-221.
- SHIH, C. C., C. C. HUANG, S. H. LI, M. H. HWANG, Y L. L. LEE.** 2009. Ten novel tetranucleotide microsatellite DNA markers from Asiatic black bear, *Ursus thibetanus*. *Conservation Genetics* 10(6):1845-1847
- SINCLAIR, E. A., H. L. BLACK, Y K. A. CRANDALL.** 2003. Population structure and paternity in an American black bear (*Ursus americanus*) population using microsatellite DNA. *Western North American Naturalist* 63:489-497.
- STONE, K. D., Y J. A. COOK.** 2000. Phylogeography of black bears (*Ursus americanus*) of the Pacific Northwest. *Canadian Journal of Zoology* 78:1218-1223.
- SU, B., L. SHI, G. HE, A. ZHANG, Y. SONG, Y L. FEI.** 1994. Genetic diversity in the giant panda: evidence from protein electrophoresis. *Chinese Science Bulletin* 39:1305-1309.
- TABERLET, P., J. J. CAMARRA, Y S. GRIFFIN.** 1997. Noninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. *Molecular Ecology* 6:869-876.
- TABERLET, P., Y J. BOUVET.** 1994. Mitochondrial DNA polymorphism, phylogeography, and conservation genetics of the brown bear *Ursus arctos* in Europe. *Proceedings of the Royal Society* 255:195-200.
- TAGGART-COWAN, I.** 1972. The status and conservation of bears (Ursidae) of the world: 1970. *International Conference in the Bear, Research and Management* 23:343-367.
- TAGLE, D. A., M. M. MIYAMOTO, M. GOODMAN, O. HOFMANN, G. BRAUNITZER, R. GOLTENBOTH, Y J. JALANKA.** 1986. Hemoglobin of pandas; phylogenetic relationships of carnivores as ascertained whit protein sequence data. *Naturwissenschaften* 73:512-514.

- TALBOT, S. L., y G. F. SHIELDS.** 1996. A phylogeny of the bears (Ursidae) inferred from complete sequences of three mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5:567-575.
- THENIUS, E.** 1990. Carnivores: phylogeny. Pp. 370-464 in Grzimek's Encyclopedia of Mammals (Grzimek, B. ed.). McGraw-Hill, NY.
- TIAN, Y., W. NIE, J. WANG, M. A. FERGUSON-SMITH, y F. YANG.** 2004. Chromosome evolution in bears: reconstructing phylogenetic relationships by cross-species chromosome painting. *Chromosome Research* 12:55-63.
- TRIAINT, D. A., R. M. PACE, y M. STINE.** 2004. Abundance, genetic diversity and conservation of Louisiana black bears (*Ursus americanus luteolus*) as detected through noninvasive sampling. *Conservation Genetics* 5:647-659.
- TSURUGA, H., T. MANO, M. YAMANAKA, y H. KAMANAKA.** 1994. Estimate of genetic variations in Hokkaido brown bears (*Ursus arctos yesoensis*) by DNA fingerprinting. *Japanese Journal of Veterinary Research* 42:127-136.
- VARAS, C., C. GONZÁLEZ-LÓPEZ, P. KRAUSMAN, y M. CULVER.** 2007. The use of non-invasive techniques to study the endangered black bear in the Sierra El Tigre, Sonora, Mexico. 18th International Conference on Bear Research & Management. Noviembre 4-11, 2007. Monterrey, Nuevo León, México.
- VARAS, C., y P. VITERI.** 2002. Preliminary results of the use of non-invasive sampling to study population genetics of the spectacled bear (*Tremarctos ornatus*) in Ecuador. *South America. International Bear Management news* 11:4-21.
- VITERI, P. M., y L. P. WAITS.** 2009. Identifying polymorphic microsatellite loci for Andean bear research. *Ursus* 20:102-108.
- WAITS, L. P., P. TABERLET, J. E. SWENSON, F. SANDEGREN, y R. FRANZÉN.** 2000. Nuclear DNA microsatellite analysis of genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctos*). *Molecular Ecology* 9:421-431.
- WAITS, L. P., J. SULLIVAN, S. J. O'BRIEN, y R. H. WARD.** 1999. Rapid radiation events in the Family Ursidae indicated by likelihood phylogenetic estimation from multiple fragments of mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13:82-92.
- WAITS, L. P., S. TALBOT, R. H. WARD, y G. SHIELDS.** 1998. Mitochondrial DNA phylogeography of North American brown bear and implications for conservation. *Conservation Biology* 12:408-417.
- WAN, Q., L. ZHU, H. WU, y S. FANG.** 2006. Major histocompatibility complex class II variation in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *Molecular Ecology* 15:2441-2450.
- WARRILLOW, J., M. CULVER, E. HALLERMAN, y M. VAUGHAN.** 2001. Subspecific affinity of black bears in the White River National Wildlife Refuge. *The Journal of Heredity* 92:226-233.
- WATHEN, W. G., G. F. MCCrackEN, y M. R. PELTON.** 1985. Genetic variation in black bears from the Great Smoky Mountains National Park. *Journal of Mammalogy* 66:564-567.
- WOODING, S., y R. WARD.** 1997. Phylogeography and Pleistocene evolution in the North American black bear. *Molecular Biology and Evolution* 14:1096-1105.
- WOODS, J. G., D. PAETKAU, D. LEWIS, B. N. McLELLAN, M. PROCTOR, y C. STROBECK.** 1999. Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. *Wildlife Society Bulletin*

27:616-627.

- WOZENCRAFT, W. C.** 1989. The phylogeny of the recent Carnivore. Pp. 495-535 in *Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution* (Gittleman, J. L., ed.). Cornell Univ. Press, Ithaca, NY.
- WU, H, S. N.ZHANG, Y F. W.WEI.** 2009. Twelve novel polymorphic microsatellite loci developed from the Asiatic black bear (*Ursus thibetanus*). *Conservation Genetics* 11(3):1215-1217.
- WURSTER-HILL, D. H., Y M. BUSH.** 1980. The interrelationship of chromosome banding patterns in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) hybrid bear (*Ursus middendorfi* × *Thalarctos maritimus*), and other Carnivores. *Cytogenetics and Cell Genetics* 27:147-154
- YASUKOCHI, Y., S. NISHIDA, S. HAN, T. KUROSAKI, M. YONEDA, Y H. KOIKE.** 2008. Genetic structure of the Asiatic black bear in Japan using mitochondrial DNA analysis. *Journal of Heredity* 11:1-12.
- YERENA, E.** 1998. The protected areas for Andean bear (*Tremarctos ornatus*) in South America. *Ursus* 10:101-108.
- YOUNG, B. F., Y R. L. RUFF.** 1982. Population dynamics and movements of black bears in East Central Alberta. *Journal of Wildlife and Management* 46:845-860.
- YU, L., Q. W. LI, O. A. RYDER, Y Y. P. ZHANG.** 2004a. Phylogeny of the bears (Ursidae) base on nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32:480-494.
- YU, L., Q. W. LI, O. A. RYDER, Y Y. P. ZHANG.** 2004b. Phylogenetic relationships within mammalian Order Carnivora indicate by sequences of two nuclear DNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33:694-705.
- YU, L., Y. W. LI, O. A. RYDER, Y Y. P. ZHANG.** 2007. Analysis of complete mitochondrial genome sequences increases phylogenetic resolution of bears (Ursidae), a Mammalian Family that experienced rapid speciation. *BMC Evolutionary Biology* 7:198.
- ZHANG, Y. P., Y O. A., RYDER.** 1994. Phylogenetic relationships of bears (the Ursidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 3:351-359.
- ZHANG, Y. P., Y O. A., RYDER.** 1993. Mitochondrial DNA sequence evolution in the Arctoidea. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90: 9557-9561.
- ZHANG, Y., Y L. M. SHI.** 1991. Riddle of the giant panda. *Nature* 352:573.
- ZHANG, Y., J. HU, Y N. LIU.** 2007b. The influence of dispersal on the metapopulation viability of giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) in the Minshan Mountains. *Acta Zoológica Academiae Scientiarum Hungaricae* 53:169-184.
- ZHANG, Y., X. WANG, O. A. RYDER, H. LI, H. ZHANG, Y. YONG, Y P. WANG.** 2002. Genetic diversity and conservation of endangered animal species. *Pure and Applied Chemistry* 74:575-584.
- ZHANG, B., L. MING, Z. LIFENG, S. FUWEN, W. ZHANG, Z. ZHANG, H. JINCHU, B. GOOSSENS, Y M. BRUFORD.** 2007a. Genetic viability and population history of the giant panda, putting an end to the evolutionary dead-end? *Molecular Biology and Evolution* 24:1801-1810.
- ZHANG, Y., O. A. RYDER, Z. FAN, H. ZHANG, T. HE, G. HE, A. ZHANG, L. FEI, S. ZHONG, H. CHEN, C. ZHANG, M. YANG, F. ZHU, Z. PENG, T. PU, Y. CHEN, M. YAO, Y W. GUO.** 1997. Sequence

variation and genetic diversity in the giant panda. *Science in China* 40:210-216.
ZHU. L. X. D. RUAN, Y. F. GE, Q. H. WAN, Y S. G. FANG. 2007. Low major histocompatibility complex class II DQA diversity in the Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *BMC Genetics* 8:1-7.

Sometido: 1 de Septiembre de 2010

Revisado: 21 de febrero de 2011

Aceptado: 5 de marzo de 2011

Editor asociado: Jan Schipper