FILOGEOGRAFÍA Y CONSERVACIÓN GENÉTICA DEL PECARÍ DE COLLAR, *Pecari tajacu* EN CUATRO DEPARTAMENTOS DE COLOMBIA

SANDRA PATRICIA SABOGAL RODRÍGUEZ

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS, DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
Bogotá 2010

FILOGEOGRAFÍA Y CONSERVACIÓN GENÉTICA DEL PECARÍ DE COLLAR, *Pecari tajacu* EN CUATRO DEPARTAMENTOS DE COLOMBIA

SANDRA PATRICIA SABOGAL RODRÍGUEZ

Tesis de Maestría en Biología
Línea Manejo y Conservación de la Vida Silvestre

Director
LUÍS FERNANDO GARCÍA PINZÓN
Biólogo, Ph.D.

A María del Pilar y Jaime

Compañeros incondicionales en este viaje
llamado Vida

TEXTO DE AGRADECIMIENTOS

Toda mi gratitud a mi hermana María del Pilar y mi esposo Jaime, quienes me apoyaron incondicionalmente con todo su amor y paciencia durante todo el proceso investigativo.

A mi director de tesis, Luís Fernando García y a la profesora Olga Lucía Montenegro quienes creyeron en mis capacidades para desarrollar este proyecto y brindaron todo su conocimiento y experiencia.

A la Universidad Nacional de Colombia y el programa de posgrado que me otorgaron las herramientas para mi crecimiento intelectual y personal.

Finalmente, a todas las personas que me hicieron participe de sus pensamientos en diferentes momentos durante las salidas de campo, el trabajo en el laboratorio de Biología Molecular y de Genética y en conversaciones espontáneas del día a día, ya que generaron en mí un cambio en la forma de sentir y vivir el mundo.

A todos, muchas gracias.

FILOGEOGRAFÍA Y CONSERVACIÓN GENÉTICA DEL PECARÍ DE COLLAR, *Pecari tajacu* EN CUATRO DEPARTAMENTOS DE COLOMBIA

RESUMEN

El pecarí de collar, *Pecari tajacu* es una de las tres especies de la familia Tayassuidae. Esta especie se encuentra distribuida desde el sur de Norte América hasta el Norte de Argentina. Diferentes investigaciones reconocen las amenazas para la conservación de la especie como la cacería por subsistencia o deporte y la modificación drástica de su ambiente, en la actualidad no se conoce el estado de la especie para Colombia.

Este estudio analizó un total de 117 secuencias de ADN mitocondrial: 57 de Citocromo B y 60 de la región control en individuos de la especie *Pecari tajacu* de los departamentos colombianos: Arauca, Antioquia, Casanare, Cesar, Meta y Bolívar, y 29 secuencias publicadas en Genbank que corresponden a individuos de Estados Unidos, México, Argentina y Bolivia (Góngora *et al*.,2006).

Los análisis filogenéticos de Máxima Parsimonia e Inferencia Bayesiana soportaron la existencia en Colombia de tres linajes intraespecíficos de la especie *Pecari tajacu*, denominados Clado Norte, Clado Sur 1 y Clado Sur 2. La mayor diversidad haplotípica y nucleotídica para los dos marcadores se encontró en las poblaciones de Antioquia y Cesar. Las poblaciones analizadas presentaron alta estructuración poblacional Fst >0,70 (p: 0,00). El 60% para Citocromo B y el 70% para la Región Control de la variabilidad genética, se explicó por la variación entre las regiones naturales en las que se localizaron los individuos muestreados, Región Andina (Antioquia), Región Caribe (Cesar) y Región Orinoquía (Arauca, Casanare, Meta y Boyacá). A partir de los análisis filogeográficos de Clados Anidados (Templeton *et al*., 1998) y las simulaciones de las relaciones genealógicas de los individuos (Kingman, 1982) se evidenció la expansión del rango de la especie como principal proceso histórico que moldeó la diversidad genética actual de las poblaciones del pecarí de collar y su distribución geográfica. La concordancia entre los

análisis filogenéticos, genético-poblacionales y filogeográficos permitieron proponer tres unidades de manejo y un posible fenómeno de hibridación entre linajes de la especie *Pecari tajacu* en el Sur Oriente del departamento de Antioquia.

Palabras clave:
Pecari tajacu, Clados, Filogenética, genética de poblaciones, Filogeografía

PHYLOGEOGRAPHY AND CONSERVATION GENETICS OF COLLARED PECCARI, *Pecari tajacu* IN FOUR COLOMBIAN DEPARTMENTS

ABSTRACT

Pecari tajacu, the collared peccary, has a wide distribution from Southern North America to Nortern Argentina; it inhabits heterogeneous environments under different degrees of anthropic intervention, which possibly explains at least 14 described species. This species colonized the South American continent during the Great American Biotic Interchange, where land and freshwater fauna migrated in both directions from North America via Central America to South America. Because of the strategic position of Northern South America, along the route of migration, this historical fingerprint must be evident in current distribution of this and other species in Colombia.

Throughout population genetics, phylogenetic and phylogeographic approaches, two mitochondrial DNA genes (Citochrome b and the Control Region) revealed the existence of two major clades (North and South) for peccary populations from several Departments of Colombia (Antioquia, Cesar, Arauca, Casanare, Boyaca, Meta and Bolívar). Additionally, the South Clade is subdivided in two minor clades named S1 and S2. Larger genetic divergences were found in the North Clade, including very high values for samples from Puerto Berrio municipality (Department of Antioquia). Those extreme divergences and the possible presence of intraspecific hybrids in captivity suggest the possible effect of introgression in the evolutionary history of wild populations of this species. Nested Clade analyses

suggest the effect of allopatric fragmentation and range expansion in the evolutionary history of peccary populations from Colombia. Divergence times estimation for the separation of the major clades are about 3,93 MYA and for the two minor South Clades of 2,03 MYA.

Key words:
Pecari tajacu, Clades, phylogenetic, population genetic, phylogeography

CONTENIDO

RESUMEN **5**

ABSTRACT **7**

CONTENIDO **9**

LISTA DE TABLAS **12**

LISTA DE FIGURAS **14**

1. INTRODUCCIÓN **17**

2. JUSTIFICACIÓN **21**

3. OBJETIVOS **22**

3.1 Objetivo general **22**

3.2. Objetivos específicos **22**

4. MARCO TEÓRICO **23**

4.1 TAYASSUIDAE (CETARTIODACTYLA, MAMMALIA) **23**

4.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA **24**

4.3 Pecari tajacu (Linnaeus, 1758) **25**

4.3.1 Sinónimos 25
4.3.2 Nombre común 25
4.3.3 Distribución 25
4.3.4 Características morfológicas 25
4.3.5 Ecología 27
4.3.6 Comportamiento 30
4.3.7 Reproducción 31
4.3.8 Estado de conservación 31

4. 4 MANEJO DE LA ESPECIE Pecari tajacu EN LATINOAMERICA **34**

4.5 ESTUDIOS GENÉTICOS DE LA ESPECIE Pecari tajacu **35**

4.5.1 Citogenética 35
4.5.2 Análisis filogenético 36

5. METODOLOGÍA 38

5.1 Área de estudio 38

5.2 Fase de laboratorio 39
5.2.1 Extracción y cuantificación de ADN 39
5.2.2 Amplificación de los marcadores Citocromo B y la Región Control 39
5.2.3 Purificación y secuenciación 41

5.3 Análisis de datos 45

6. RESULTADOS 49

6.1 Composición nucleotídica 50

6.2 Análisis filogenéticos 51
6.2.1 Máxima Parsimonia 51
6.2.1.1 Citocromo b 51
6.2.1.2 Región control 55
6.2.2 Inferencia Bayesiana 55
6.2.2.1 Citocromo b 55
6.2.2.2 Región control 57
6.2.3 Región Control y Citocromo B, datos combinados 57
6.2.4 Distancias genéticas 60
6.2.5 Cambios Sinónimos y No Sinónimos entre los grupos intraespecíficos 63
6.2.5.1 La especie *Pecari tajacu* 64
6.2.5.2 Clados y Subclados dentro de la especie *Pecari tajacu* 65

6.3 Análisis poblacional 69
6.3.1 Diversidad genética 72
6.3.2 Estructura poblacional 72
6.3.2.1 Análisis de Varianza Molecular entre Regiones 73
6.3.2.2 Diversidad genética y Análisis de Varianza Molecular dentro de las Regiones 74
6.3.2.2.1 Región Andina 74
6.3.2.2.2 Región Caribe 75
6.3.2.2.3 Región Orinoquía 76
6.3.2.3 Flujo génico entre y dentro de las regiones 76
6.3.2.4 Pruebas de Neutralidad 77

6.4 ANÁLISIS FILOGEOGRÁFICO 78

6. 4.1 Análisis de Clados Anidados 79
6.4.2 Teoría de la coalescencia.....82
6.4.2.1 Tamaño poblacional.....83
6.4.2.2 Eventos migratorios en el tiempo.....83
6.4.2.3 Tiempos de divergencia.....84

9. DISCUSIÓN 93

8. CONCLUSIONES 104

9. RECOMENDACIONES.....106

10. BIBLIOGRAFIA 108

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Lista de subespecies de *Pecarí tajacu* (Grubb y Groves, 1993).....29

Tabla 2. Localidades en las que se obtuvo muestras (pelo, sangre o tejido muscular) de la especie *P. tajacu*. La última columna hace referencia a los códigos asignado a cada muestra.....42

Tabla 3. Lista de cebadores (*primers*) utilizados * Secuencia de referencia, *Sus scrofa* AP003428.1. (pb) pares de bases.....44

Tabla 4. Lista de secuencias adicionales utilizadas en los análisis filogenéticos. [1 a 4] Secuencias obtenidas en este trabajo. Las secuencias 30 a 33 conforman el grupo externo. N.R. origen no registrado en Genbank. 53

Tabla 5. Distancia genética entre las secuencias analizadas en este trabajo. [*] Desviación estándar. 60

Tabla 6.Cambios no sinónimos que definen la familia Tayassuidae en este estudio (57 individuos *Pecari tajacu* y 2 individuos *Tayassu pecari*). * cambio de grupo funcional del aminoácido. 64

Tabla 7.Cambios no sinónimos que definen los individuos *Pecari tajacu*. * cambio de grupo funcional del aminoácido. 66

Tabla 8. Cambios no sinónimos que definen los individuos *Pecari tajacu* del clado Norte. 66

Tabla 9. Lista de haplotipos obtenidos de Citocromo B. Las columnas N, y Clado indican el número de individuos para cada haplotipo y el grupo filogenético intraspecífico respectivamente.....69

Tabla 10. Lista de haplotipos obtenidos de la Región Control. Las columnas N, y Clado indican el número de individuos para cada haplotipo y el grupo filogenético intraspecífico respectivamente.....71

Tabla 11. Diversidad genética. No.Loc: número de localidades muestreadas, No.S: número de secuencias obtenidas, No.H: número de haplotipos, π: diversidad nucleotídica, S: sitios segregantes, Hd: diversidad haplotípica. Las muestras del

departamento de Bolívar no fueron amplificadas ni secuenciadas con éxito para la Región Control. 73

Tabla 12. AMOVA entre regiones 1 (Andes), 2 (Caribe) y 3 (Orinoquía) para Citocromo b y Región control. 74

Tabla 13. AMOVA entre regiones 1 (Andes), 2 (Caribe) y 3 (Orinoquía) para Citocromo b y Región control sin las secuencias 545_ANT, CAB_ANT, 106_ANT y 108_CAS que correspondieron a *outliers*. 74

Tabla 14. Diversidad genética de la Región 1, departamentos Antioquia y Bolívar. Información obtenida por medio del programa DNAsp. *zona limítrofe entre Antioquia-Puerto Berrío y Santander. No.S: número de secuencias obtenidas, No.H: número de haplotipos, π: diversidad nucleotídica, S: sitios segregantes, Hd: diversidad haplotípica. 75

Tabla 15. Diversidad genética de la Región 2, departamento del Cesar. Información obtenida por medio del programa DNAsp. A. Codazzi: municipio Agustín Codazzi.*zona limítrofe entre los departamentos Cesar y Magdalena. No.S: número de secuencias obtenidas, No.H: número de haplotipos, π: diversidad nucleotídica, S: sitios segregantes, Hd: diversidad haplotípica. 75

Tabla 16.Diversidad genética de la región S2, Arauca, Casanare y Meta. Información obtenida por medio del programa DNAsp. No.S: número de secuencias obtenidas, No.H: número de haplotipos, π: diversidad nucleotídica, S: sitios segregantes, Hd: diversidad haplotípica. 76

Tabla 17. Valores de las pruebas de neutralidad Tajima D y Fu y Li´s.* estadísticamente significativo. 78

Tabla 18. Valores promedio de los tiempos de divergencia entre los Clados Norte y Sur……88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.Imagen de un pecarí de collar juvenil. Fotografía tomada por Sandra Sabogal. 18

Figura 2. Distribución de la especie *Pecari tajacu.* Ilustración: Rodríguez-Mahecha *et al* 2006. 26

Figura 3. Características externas de la especie *Pecari tajacu.* (a) imagen en la que se observan algunas diferencias en tamaño y pelaje entre los cerdos, familia Suidae y un pecarí de collar, familia Tayassuidae. (b) Detalle de un pecarí, en el que se observa el color del pelaje y la franja de pelos en forma de media luna alrededor de los hombros. Fotografías tomadas por Sandra Sabogal 28

Figura 4. Imagen tomada de http:///www.veterinaria.uady.mx 33

Figura 5. Captura y manipulación de un pecarí de collar. (a) y (b) Uso de una amansa loco y una nasa para capturar el pecarí. (c) Animal restringido físicamente y herido con sus propios colmillos. (d) Toma de muestra de sangre. (e) Colecta de pelos con folículo. (f) Muestra de sangre sobre tarjeta FTA. Imágenes tomadas por Sandra Sabogal. 40

Figura 6. Sitios de muestreo en los departamentos de Antioquia, Cesar, Arauca, Casanare, Meta, Boyacá y Bolívar. Los números indican los municipios relacionados en la Tabla 2. 43

Figura 7. Imágenes de geles de agarosa al 1% visualizados con Bromuro de etidio. (a) Amplificación de la Región control, la flecha indica una tamaño aproximado de 1200 pares de bases. (b) Amplificación del marcador Citocromo b, la flecha indica aprox. 800 pb. En ambos casos se utilizó el marcador de peso molecular 123 de Invitrogen. 44

Figura 8. Porcentaje de transiciones y transversiones por posición en el codón de la matriz de secuencias de Citocromo b. 50

Figura 9. Porcentaje de sustituciones sinónimas y no sinónimas por posición en el codón (secuencias de Citocromo b). 51

Figura 10. Árbol consenso (50% regla de la mayoría) con los soportes correspondientes a bootstrap con 1000 réplicas de las secuencias de Citocromo B.

Cluster Norte se indica con el color azul, el Sur 1 con el rojo y el Sur 2 con el verde. 54

Figura 11. Árbol consenso (50% regla de la mayoría) con los soportes correspondientes a *bootstrap* con 1000 réplicas de las secuencias de la Región Control. Cluster Norte se indica con el color azul, el Sur 1 con el rojo y el Sur 2 con el verde. 56

Figura 12. Árbol correspondiente al análisis bayesiano de las secuencias correspondientes al marcador Citocromo b, valores sobre las ramas indican la probabilidad posterior. Cluster Norte se indica con el color azul, el Sur 1 con el rojo y el Sur 2 con el verde. 58

Figura 13. Árbol correspondiente al análisis bayesiano de las secuencias de la Región control, valores sobre las ramas indican la probabilidad posterior. Cluster Norte se indica con el color azul, el Sur 1 con el rojo y el Sur 2 con el verde. 59

Figura 14. Máxima parsimonia, árbol consenso (50% regla de la mayoría) que corresponde a los datos combinados de Citocromo b y la Región Control. 61

Figura 15. Análisis bayesiano, árbol consenso del con los datos combinados de Citocromo B y la Región Control. El número sobre las ramas indica la probabilidad posterior. 62

Figura 16. Modelo de la proteína Citocromo B (Howell, 1989, Irwin, 1991). Los bloques rojos corresponden a los aminoácidos que se encuentran en la secuencia de *Pecari tajacu,* (cambios no sinónimos, tabla 7). Los óvalos verdes son los cambios no sinónimos que separan los individuos que conforma el grupo Norte del Sur. 67

Figura 17. Número de cambios nucleotídicos en las secuencias de citocromo b (1) y la Región Control (2) de los individuos *Pecari tajacu* entre las regiones diferenciadas Norte, Sur 1 y Sur 2. 65

Figura 18. Correlograma de Mantel. Programas utilizados GenALEx 6.1 (Peakall *et al*., 2006) y PASSAGE 1.0 (Rossenberg *et al*., 2001). 77

Figura 19. Red de haplotipos 1, generada por TCS v 1.21. En esta red los individuos 545 y 106 no se conectan ya que superan en número de pasos máximo establecido por estadística parsimoniosa. 80

Figura 20. Red de haplotipos 2, conformada en su mayoría por las muestras del departamento del Cesar. 81

Figura 21. Red de haplotipos 3, conformada por las muestras de los departamentos Arauca, Casanare, Meta y Boyacá. 81

Figura 22. Fórmula de verosimilitud de los parámetros poblacionales a partir de las simulaciones de las genealogías. P: Parámetros poblacionales, **θ, *M***, D: Datos, secuencias, G: Genealogías. 82

Figura 23. Skyline plots, tiempo y tamaño poblacional, la abscisa es el tiempo en tasa mutacional por sitio por generación y la ordenada corresponde al parámetro θ: Ne.μ. a.Antioquia b.Cesar c.Meta d.Casanare, e. Arauca.....85

Figura 24. Eventos migratorios a través del tiempo hacia Antioquia desde a. Arauca b. Casanare c.Cesar d.Meta. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación. 86

Figura 25. Eventos migratorios a través del tiempo hacia Arauca desde a. Antioquia b. Casanare c.Cesar d.Meta. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación. 87

Figura 26. Eventos migratorios a través del tiempo hacia Casanare desde a. Antioquia b. Arauca c.Cesar d.Meta. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación. 88

Figura 27. Eventos migratorios a través del tiempo hacia el Cesar desde a. Antioquia b. arauca c.Casanare d.Meta. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación. 89

Figura 28.Eventos migratorios a través del tiempo hacia el Meta desde a. Antioquia b. arauca c.Casanare d.Cesar. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación. 90

Figura 29. Tiempos de divergencia entre los clados Norte (azul), Sur 1 (Rojo) y Sur 2 (Verde). Los números sobre las ramas representan millones de años. 92

Figura 30. Diferencias en el color del pelaje. a. pecarí de Antioquia, b. pecarí de Cesar. 95

1. INTRODUCCIÓN

Pecari tajacu (Linnaeus, 1758) es una de las tres especies pertenecientes a la familia Tayassuidae, Orden Cetartiodactila. Esta especie presenta un rango de distribución amplio que comprende el sur de Norte América, Centro y Sur América (Wilson y Reeder, 1993). Los pecaríes han sido y son la base de la caza de subsistencia de las comunidades campesinas e indígenas, consideradas junto con otras especies como "carne de monte". Las pieles de los pecaríes, en especial la del pecarí de collar, *Pecari tajacu,* son de gran interés en los intercambios comerciales entre los pueblos del Perú y Brasil, y junto con el pecarí de labios blancos, *Tayassu pecari,* son parte de los trofeos de la caza deportiva legal e ilegal en Argentina, Paraguay, Perú, Brasil, Colombia, Costa Rica, Panamá, Venezuela y Ecuador (Ojasti, 1993).

El pecari de collar o saíno, *Pecari tajacu*, presenta características morfológicas externas que lo diferencian de las otras dos especies existentes, como el color del pelaje, la longitud total y el tamaño corporal (Bodmer *et al*., 1997). Una de las características externas que lo identifican es la franja clara de pelos que a manera de collar se extiende alrededor de sus hombros y a la que se hace referencia en su nombre común (Figura 1). El comportamiento gregario permite a esta especie la conformación de pequeñas manadas de 8.6 individuos en promedio (Day, 1985 en Sowls, 1997), sin embargo factores ambientales y ecológicos como la disponibilidad de recursos alimenticios así como la presión de cacería pueden modificar el tamaño del grupo de 4 a 30 animales promedio (Sowls, 1997).

Esta especie se encuentra en el Apéndice II de CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres), en esta categoría se encuentran las especies de distribución amplia, localmente comunes, pero cazadas intensamente por su piel, carne o por deporte. CITES permite para *Pecari tayacu* el comercio regulado de la piel y la carne, y autoriza anualmente unos cupos de exportación de los especímenes para los países que presentan información del estado de las poblaciones de pecarí. Para la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) esta especie se encuentra en la categoría de las especies de Riesgo Bajo, aunque para Colombia su estado es indeterminado, no existiendo información en el Libro Rojo de Mamíferos de Colombia (Rodríguez-Mahecha *et al.,* 2006).

Figura 1.Imagen de un pecarí de collar juvenil. Fotografía tomada por Sandra Sabogal.

El pecarí de collar a diferencia del pecarí de labios blancos se puede encontrar en diferentes ambientes desde bosque primario hasta zonas de alto disturbio antropogénico como los asentamientos humanos y las parcelas agrícolas; esta flexibilidad en sus requerimientos le hace una especie con mayor adaptabilidad a los cambios de su entorno. La dieta del pecarí de collar presenta como fuente principal los frutos y semillas con cubiertas duras, algunas tóxicas, de difícil digestión como lo son los frutos de las familias Arecaceae y Sapotaceae, aunque en ambientes áridos la dieta de estos animales puede incluir especies de Cactaceae y una amplia gama de especies de la familia Poaceae. Esta especie es una excelente diseminadora de semillas a grandes distancias y su comportamiento de búsqueda de alimento en la hojarasca, permite la remoción y por ende el ingreso y ciclado de nutrientes en el suelo (Sowls 1984, 1997, Corn y Warren 1985, Shively *et al*., 1985 en Bodmer *et al*., 1997).

Estudios citogenéticos de las especies de pecaríes separan a *Pecari tajacu* con cariotipo 2n: 30 de *Tayassu pecari* con 2n: 26. En cautiverio se han encontrado los híbridos estériles de estas dos especies con un número diploide de 28 (Andrea *et al.,* 2001). Adicionalmente, la información obtenida por medio de ADN mitocondrial (ADNmt) y la heterocromatina constitutiva sugiere la separación de estas dos especies en dos géneros distintos, *Tayassu* y *Pecari* (Góngora y Moran 2004, Adega *et al.,* 2007).

Con la técnica de bandeo R-Replicativo RGB de individuos de *Pecarí tajacu* de Colombia, se encontró que el polimorfismo observado en los cromosomas 1 y 8 (Vassart, 1994; Góngora *et al*., 2000 en Builes *et al.,* 2004) corresponde a un rearreglo cromosómico tipo translocación balanceado entre dichos cromosomas, evento que constituye un marcador que diferencia las poblaciones de pecaríes de collar de Sur América de las de Centro América (Builes *et al*., 2004). Esta estructuración geográfica fue observada también en las secuencias de los marcadores moleculares Citocromo b y la Región Control del genoma

mitocrondrial (Góngora *et al*., 2006), en la que se evidenció la constitución de dos grupos o clados mayores conformados por los haplotipos de Norte/Centro América y los de Sur América, en donde las muestras de individuos colombianos se encuentran tanto en el grupo de Norte/Centro América como en grupo de Sur América, resultados que indican la posible presencia de una zona híbrida para la especie *Pecarí tajacu* en Colombia.

2. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo titulado: "**Filogeografía y Conservación Genética del pecarí de collar, *Pecari tajacu*, en cuatro departamentos de Colombia"** hace parte del proyecto "**Evaluación Serológica y Diseño de un Programa de Vigilancia Epidemiológica para las Especies Silvestres de Saínos (*Pecari tajacu* y *Tayassu pecari*) respecto a la Peste Porcina Clásica (ppc) en algunas Áreas Piloto de los Departamentos de Arauca, Casanare, Cesar y Antioquia**", convenio de cooperación científica, tecnológica y financiera entre el Ministerio de Medio Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, la Universidad Nacional de Colombia y la Asociación Colombiana de Porcicultores.

Este estudio complementa el conocimiento de la diversidad genética de las poblaciones colombianas de pecarí de collar, específicamente de aquellas distribuidas en los departamentos de Antioquia, Arauca, Cesar y Casanare, zonas que presentaron en el modelo de distribución de la especie las mejores condiciones para su desarrollo y establecimiento (Montenegro *et al*., 2008). La información obtenida de este estudio constituye la base para establecer el estado actual y futuro de esta especie y ofrece a las entidades ambientales y a las comunidades que se benefician directamente de la misma, fundamentos que les permiten tomar decisiones sobre el manejo adecuado de los saínos o pecaríes de collar.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

3.1.1 Evaluar la estructuración geográfica de la diversidad genética de los grupos de individuos de la especie *Pecari tajacu* muestreados en los departamentos del Cesar, Antioquia, Arauca y Casanare.

3.2. Objetivos específicos

3.2.1 Describir la diversidad genética y la estructura poblacional de la especie *Pecari tajacu*, y relacionar esta información con la ubicación geográfica de los individuos y poblaciones.

3.2.2 Identificar los diferentes linajes evolutivos intraespecíficos de esta especie de pecarí.

3.2.3 Proponer las posibles unidades de manejo dentro de la especie *Pecari tajacu* basadas en la información obtenida con las secuencias de los dos marcadores, Citocromo b y Región Control.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 TAYASSUIDAE (CETARTIODACTYLA, MAMMALIA)

La familia Tayassuidae pertenece al orden Artiodactila (griego ártios: par, igual número y daktulos: dedos), que es un grupo de mamíferos placentarios que posee pezuñas en un número igual de dedos funcionales del pie. Recientes estudios moleculares establecen la inclusión en este Orden a las ballenas y delfines (Orden Cetácea) por lo cual se decidió fusionar el nombre de los ordenes generando el Orden Cetartiodactyla (Latin cetus: criatura marina de gran tamaño) (Prothero y Foss, 2007).

Existen características morfológicas que relacionan la familia de los "pecaríes" o cerdos del Nuevo Mundo, familia Tayassuidae con los cerdos del viejo mundo, Familia Suidae, entre las que se encuentran rasgos dentales y poscraniales (Gentry y Hooker, 1988 en Prothero y Foss, 2007).

Inicialmente se consideraba que la familia Tayassuidae había estado restringida al continente americano, pero en 1927 se identificaron fósiles de pecaríes pertenecientes al terciario en Europa y luego se encontraron fósiles en Asia y en el noroccidente de la Ciudad del Cabo en Sur África, este hallazgo fue datado entre 4 y 5 millones de años (Hendey, 1976). Los registros fósiles de la familia Tayassuidae apoyan su origen en el viejo continente y su migración hacia América en el Eoceno hace 36 a 38 millones de años (Ducrocq, 1994 en Góngora y Moran, 2004).

En el Mioceno tardío hace aproximadamente 5 millones de años se inició un gran movimiento migratorio conocido como el Gran Intercambio de Biota Americana (GIBA) que tuvo su clímax hace 3.2 millones de años cuando se consolidó un puente terrestre entre Centro América y Sur América (Brown y Lomomino, 1998). La conexión terrestre facilitó el ingreso a Sur América de fauna de origen holártico como las especies de la familia Tayasuidae. El primer registro de un pecarí en Sur América, específicamente en Argentina data de 4.6 millones de años (Gasparini y Zurita, 2005, Cioni *et al*., 2007).

Actualmente en América existen tres géneros representantes de la familia, estos son *Tayassu*, *Pecari* y *Catagonus*, cada uno con una única especie dentro del género (Góngora y Moran, 2004).

4.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Phylum: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Cetartiodactyla

Suborden: Suina o suiforme

Familia: Tayassuidae

Género: Pecari

Especie: *Pecari tajacu.*

4.3 Pecari tajacu (Linnaeus, 1758)

4.3.1 Sinónimos

Tayassu tajacu, *Dicotyles tajacu* (Wilson y Reeder, 1993).

4.3.2 Nombre común

Pecarí de collar, baquiro (Venezuela), cerdo de monte, cateto ó caitetu (Brasil), saíno (Panamá), tatabro, cafucha, paquira (Surinam) (Donkin, 1985).

4.3.3 Distribución

El pecarí de collar se distribuye desde el suroeste de Estados Unidos a lo largo de América central, la región amazónica, la costa del Pacífico de Colombia, Ecuador, Perú, el Chaco de Paraguay, Bolivia, Brasil, el norte de Argentina, Trinidad y en Cuba de manera introducida (Figura 2) (Husson, 1978, Sowls, 1984 en Bodmer *et al*, 1997, Wilson y Reeder, 1993).

4.3.4 Características morfológicas

Esta especie de pecarí presenta en general apariencia de cerdo, característica que permitió su confusión con cerdos ferales o asilvestrados en la época de la conquista (Donkin, 1985). Su pelaje es la combinación de pelos que van desde el color gris presente en los individuos que habitan en zonas áridas al negro en grupos de pecaríes de ambientes boscosos (Bodmer y Sowls, 1993). Como señal característica esta especie presenta una zona de pelos blancos amarillentos por encima de los hombros en forma de collar. La cabeza y la mandíbula son largas, el

nostril es desnudo y de color rosado, los caninos son largos y no se ven cuando la boca está cerrada. Los ojos son pequeños y proporcionan una pobre visión pero en compensación presentan los sentidos del olfato y el oído muy desarrollados (Sowls, 1997).

Figura 2. Distribución de la especie *Pecari tajacu.* Ilustración: Rodríguez-Mahecha *et al* 2006.

Las patas delanteras presentan cuatro dedos, dos de ellos tocan el suelo y otros dos que no lo hacen, por lo que generalmente no aparecen en las huellas, las patas traseras presentan dos dedos largos y uno más pequeño muy rudimentario.

De las tres especies de pecaríes, el pecarí de collar es el más pequeño, con un peso entre 15 y 30 Kg y una longitud promedio de 90 cm (Emmons, 1999). En la línea media a 15 cm de la base de la cola se encuentra una glándula de olor que utiliza para el reconocimiento de la manada y de su hábitat. A diferencia de los cerdos del viejo mundo la cola en los pecaríes es diminuta a ausente (Sowls, 1997).

4.3.5 Ecología

Las poblaciones de *Pecari tajacu* se encuentran desde los 0 a los 2000 metros sobre el nivel del mar (msnm) en diversos tipos de ambientes que incluyen bosques, pastizales, sabanas, hasta zonas fuertemente modificadas por la actividad del hombre. La gran adaptabilidad a diferentes ambientes puede evidenciarse por la presencia de 14 subespecies reconocidas, nueve en el Norte y Centro América y cinco en América del sur (Ojasti, 1993, Donkin, 1985, Wilson y Reeder, 1993) (Tabla 1).

La dieta de esta especie incluye raíces, hongos, nueces, frutas, huevos, serpientes, pescado y ranas, siendo la fuente principal de nutrientes los frutos, especialmente de especies arbóreas que usualmente presentan semillas menos digeribles y con cubiertas muy duras. Bodmer *et al*.,1997 encontró que de 121 contenidos estomacales de pecarí de collar el 59% eran frutos, 9% hojas, 14% fibra y 17% material animal (insectos y caracoles), 0.3% setas y 0.6% flores. Los frutos que fueron consumidos en mayor cantidad pertenecían a las familias Arecaceae y Sapotaceae. Esta dieta se ve modificada en ambientes áridos en

donde los pecaríes consumen partes de especies vegetales suculentas como los cactus y gran cantidad de gramíneas.

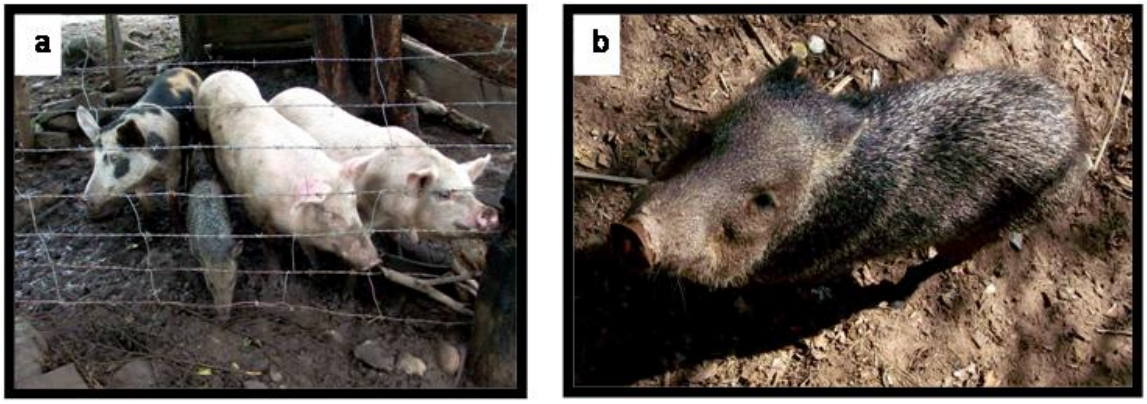

Figura 3. Características externas de la especie *Pecai tajacu.* (a) imagen en la que se observan algunas diferencias en tamaño y pelaje entre los cerdos, familia Suidae y un pecarí de collar, familia Tayassuidae. (b) Detalle de un pecarí, en el que se observa el color del pelaje y la franja de pelos en forma de media luna alrededor de los hombros. Fotografías tomadas por Sandra Sabogal.

El consumo de frutas implica la dispersión de semillas de las especies que hacen parte de su dieta, por cual se infiere el importante papel del saíno o pecarí de collar en el establecimiento de la estructura vegetal de los ecosistemas que habita (Semarnat, 2008). Adicionalmente este pecarí posee un excelente olfato que le permite detectar fuentes de nutrientes que se encuentran enterrados, obligándolo a remover la hojarasca, acción que favorece el ciclado de nutrientes en el suelo (Donkin, 1985).

Aunque las especies de pecaríes, *Pecarí tajacu* y *Tayassu pecari* presentan áreas de distribución simpátricas, la coexistencia es posible por la diferenciación del nicho que se establece en los hábitos alimenticios entre estas especies, ya que el pecarí de labios blancos, *Tayassu pecari* presenta mayor fuerza de mordida que le permite obtener sus nutrientes de frutos y semillas con cubiertas particularmente duras que no hacen parte de la dieta del pecarí de collar (Kiltie, 1982).

Tabla 1. Lista de subespecies de *Pecarí tajacu* (Grubb y Groves, 1993).

SUBESPECIE	AUTOR
Pecari tajacu tajacu	Linneo, 1758
Pecari tajacu angulatus	Cope, 1889
Pecari tajacu bangsi	Goldman, 1917
Pecari tajacu crassus	Merriam, 1901
Pecari tajacu crusnigrum	Bangs, 1902
Pecari tajacu humeralis	Merriam, 1901
Pecari tajacu nanus	Merriam, 1901
Pecari tajacu nelsoni	Goldman, 1926
Pecari tajacu niger	J. A. Allen, 1913
Pecari tajacu nigrescens	Goldman, 1926
Pecari tajacu patira	Kerr, 1792
Pecari tajacu sonoriensis	Mearns, 1897
Pecari tajacu torvus	Bangs, 1898
Pecari tajacu yucatanensis	Merriam, 1901

Otro elemento que permite la coexistencia de las dos especies de pecaríe es la manera como utilizan su trompa, el pecarí de collar realiza búsquedas de raíces, tubérculos e insectos, mientras que el pecarí de labios blancos solo la utiliza como arado a unos pocos centímetros. De otro lado las manadas de pecarí de collar presentan mayor fidelidad al sitio lo que no se observa en el pecarí de labios blancos, este comportamiento le permite a los saínos vigilar la disponibilidad de alimento y salvaguardar los recursos del ingreso de otros frugívoros (Kiltie, 1982).

Los principales predadores naturales de esta especie son los grandes felinos americanos, el jaguar (*Panthera onca*) y el puma (*Puma concolor*) (Mendes y Chivers, 2007) y en ambientes más húmedos como la Amazonía, también se encuentra la boa (*Boa constrictor*).

4.3.6 Comportamiento

El pecarí de collar es de hábito diurno y nocturno, aunque su mayor actividad se concentra en la mañana y en la tarde. A diferencia de los antílopes y venados que son considerados animales nerviosos, los pecaríes son animales calmados y curiosos que responden ante cualquier amenaza con gruñidos, el crujir de los dientes y con el erizamiento de los pelos de la espalda (Neal, 1959, Sowls,1997).

Esta especie es gregaria y las manadas pueden estar conformadas por 8.8 individuos promedio. Las observaciones en campo indican que la manada de pecaríes de collar se ve unida en horas muy tempranas de la mañana y al finalizar la tarde y se subdividen en grupos de 1 a 3 durante el día, en donde una de las actividades más frecuentes es el forrajeo (Keuroghlian *et al*., 2004). La mayor o menor intensidad en la subdivisión de la manada depende del tipo de hábitat, la disponibilidad de alimentos, las condiciones climáticas de la zona y a factores externos como la cacería (Sowls, 1997, Gómez, 2010).

La cohesión de los individuos en una manada y la fidelidad a un sitio determinado se establecen por la marcas de olor que esta especie utiliza en el reconocimiento de los elementos de su hábitat (árboles, fuentes de agua, etc.) y de los miembros del grupo. Luego de una separación temporal, los miembros de una manada se unen, siendo muy poco frecuente el intercambio de individuos entre manadas. De igual forma es poco frecuente observar machos viejos lejos de la manada, a los que la literatura los denomina como “los solitarios” (Sowls, 1997).

El área en el cual un individuo o manada gasta la mayor parte de su vida (*Home range*) se ha establecido en 388 ha. para manadas que se encontraron en una zona ausente de cacería en Arizona y entre 73 ha. a 255 ha. en zonas de Texas

con presencia de cacería (Sowls, 1997). Keuroghlian y colaboradores en 2004 realizaron el seguimiento de dos manadas por medio de radio transmisores y obtuvieron un tamaño promedio de *home-range* de 123 ha. y 305 ha. para cada manada.

4.3.7 Reproducción

En las especies existentes de la familia Tayassuidae no existe un marcado dimorfismo sexual a diferencia de las especies extintas que presentaban diferencias en el desarrollo del proceso zigomático y del diámetro de los caninos. En el pecarí de collar no es evidente la competencia entre machos y sugiere que el sistema de apareamiento de la especie es flexible entre polígamo y promiscuo (Wrigth, 1993).

Las hembras *Pecari tajacu* presentan su primer parto a los 595 días, aunque se encontró una hembra que tuvo su primera cría a los 381 días; el tiempo promedio de gestación fue de 138 días, con un intervalo entre partos de 179 días. La producción promedio en 8 hembras fue de 2.1 camadas/hembras/año y el tamaño de la camada puede ser de hasta 4 crías, pero la mayoría es de 1 o 2 crías (Mayor *et al*., 2004, Semarnat, 2008). Las crías son destetadas a las seis u ocho semanas y el cuidado parental dura aproximadamente un año (Donkin 1985) (Figura 4). En estado silvestre la proporción de machos y hembras es 1:1 (Semarnat, 2008).

Los pecaríes de collar logran vivir hasta 24 años en cautiverio y 7.5 a 10 años en condición silvestre (Semarnat, 2008, Zoológico Santa Cruz, fuente internet).

4.3.8 Estado de conservación

Mundialmente la especie se encuentra referenciada en el apéndice II de CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna

y Flora Silvestres) y en la categoría de especies en Riesgo Bajo de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza)**,** permitiendo a países como Perú y Brasil la exportación de pieles y carne.

En el año 2007, Perú exportó legalmente 56.500 pieles de pecarí, de las cuales 45.000 pertenecieron a la especie *Pecari tajacu* y 11.500 al pecarí de labios blancos *Tayassu pecari.* La piel del pecarí de collar es considerada insumo de alta calidad para la fabricación de guantes y zapatos en países como Francia, Alemania, Austria, Suiza e Italia. En los últimos años el creciente interés internacional por estas pieles ha motivado la unión de los investigadores con las comunidades rurales de la Amazonía peruana para aumentar el conocimiento de la especie y así establecer estrategias de manejo de las poblaciones de saínos, asegurando que la extracción y manipulación de este producto natural no deteriore las poblaciones ni el ecosistema (Fang *et al*., 2008).

En Colombia la información de las especies de pecaríes, *Pecari tajacu* y *Tayassu pecari* es reducida y el estado actual de sus poblaciones es desconocido, siendo excluidas del Libro Rojo de Mamíferos de Colombia (Rodríguez *et al*., 2006).

En el 2008, investigadores de la Universidad Nacional de Colombia en convenio con el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo presentaron la distribución de mayor probabilidad de las especies de pecaríes en Colombia. Esta investigación estableció un modelo de distribución de las especies *Pecari tajacu* y *Tayassu pecari*, a partir de la información en los registros de las colecciones que se encuentran en Universidades, Institutos de investigación y museos, de la literatura disponible en tesis y artículos, y de entrevistas a funcionarios de las entidades ambientales como a la comunidad que se encuentra directamente en contacto con las especies. Toda esta información fue analizada y contrastada con 21 variables ambientales por medio de los programas MaxEnt (Máxima entropía), Arcview 3x y

con la información disponible en Internet de agencias internacionales para la conservación del ambiente como es El Fondo Nacional para la Naturaleza (WWF).

Este estudio estableció que la distribución de las especies de pecarí en Colombia era fragmentada o discontinua, en donde particularmente la especie *Pecari tajacu* puede encontrarse con mayor probabilidad en la parte norte del piedemonte de la Sierra Nevada de Santa Marta; región del Catatumbo; algunas áreas de la región del Magdalena-Urabá (Antioquia), parte media del Valle del Magdalena, algunos lugares del norte y sur de la región Chocó-Darién, una estrecha franja del piedemonte llanero, parte de Arauca, norte del departamento de Santander, nor-oriente del departamento de Vichada y occidente del departamento de Nariño (Montenegro *et al*., 2008).

Figura 4. Imagen tomada de http:///www.veterinaria.uady.mx

Aunque esta especie se adapta a los ambientes drásticamente modificados, existe sobre ellos una gran presión de cacería de las comunidades indígenas y de los

campesinos. Asimismo se ha reportado en Colombia, Costa Rica, Panamá, Venezuela, Ecuador, Brasil, Perú, Paraguay y el Norte de Argentina, un aumento en la caza deportiva de estos organismos, siendo sus pieles los trofeos de esta actividad (Ojasti 1993).

4. 4 MANEJO DE LA ESPECIE *Pecari tajacu* EN LATINOAMERICA

La carne de pecarí ha contribuido de manera considerable a la dieta humana más que cualquier otra especie terrestre, siendo el alimento favorito por varias comunidades indígenas de América desde tiempos prehispánicos. La gran cantidad de huesos y dientes fósiles de pecarí encontrados en algunos países de Centro y Sur América, así como registros históricos hacen suponer que estos animales eran domesticados para el consumo de su carne, como elemento de intercambio entre los pueblos de América y para ser utilizados en rituales religiosos de las comunidades indígenas que habitaron estas zonas desde el periodo prehistórico Preclásico o Formativo (1500 a.C) hasta el periodo inmediatamente precedente a la invasión española (Donkin, 1985).

Actualmente estas especies siguen siendo fuente de proteína de las comunidades campesinas e indígenas. Los países que presentan un conocimiento y manejo adecuado de las poblaciones silvestres pueden solicitar a CITES la aprobación de cupos nacionales de exportación de especímenes de interés, tal es el caso de Perú, que logró para el año 2009 la aprobación de 67.450 pieles y productos de cuero de *Pecari tajacu* y de 35.500 para *Tayassu pecari* (Fuente de Internet: CITES).

Por su parte Brasil, lidera el manejo de ranchos de cría para el pecarí de labios blancos *Tayassu pecari* (Margarido y Mangini 2001 en Jori *et al*., 2004). Para el pecarí de collar *Pecari tajacu,* existen proyectos de su producción comercial a gran

escala, ya que esta especie se desarrolla bien en áreas grandes cercadas y con entorno natural, este manejo reporta en promedio 150 individuos que corresponden a un beneficio bruto de US$ 7200 por año de solo carne en Brasil y US$ 4800 por venta de carne y piel en Perú (Jori *et al.,* 2004).

4.5 ESTUDIOS GENÉTICOS DE LA ESPECIE *Pecari tajacu*

4.5.1 Citogenética

Dentro de la familia Tayassuidae se ha observado una gran variación en el cariotipo; la primera hipótesis es que las tres especies existentes están menos relacionadas de lo que se había supuesto por su morfología y la segunda es que su genoma es menos estable, presentándose con mayor frecuencia rearreglos cromosómicos en comparación a lo encontrado en la familia Suidae (Bosma *et al*., 2004 en Carvalho de Souza *et al*., 2008).

El análisis de los cariotipos de las especies *Pecari tajacu* y *Tayassu pecari* con la técnica de bandeo Giemsa revela la poca homología entre sus cromosomas (Rocha, 1993 en Andrea *et al*., 2001). El número de cromosomas entre las dos especies es ligeramente diferente, *Pecari tajacu* tiene 2n:30 y *Tayassu pecari* 2n: 26. En cautiverio es posible encontrar híbridos interespecíficos, 2n:28. En Andrea *et al.,* 2001 se realizó el análisis del semen de un individuo híbrido, cuyo resultado fue la ausencia de espermatozoides, indicando su infertilidad, sin embargo este estudio planteó la necesidad de realizar estudios a un mayor número de individuos híbridos para establecer su fertilidad con las dos especies parentales.

El genoma del pecarí de collar está constituido por dos cromosomas metacéntricos, cuatro submetacéntricos, cuatro acrocéntricos (incluido el cromosoma Y) y cinco subtelocéntricos (incluido el cromosoma X). Esta especie

presenta diferencias en tamaño y número de bandas en los cromosomas 1 y 8, que separa las poblaciones centroamericanas de las suramericanas, este polimorfismo corresponde a una translocación balanceada (Vassart, 1994, Góngora *et al*., 2000 en Builes *et al*., 2004). La translocación se observa en los individuos de origen suramericano, por lo que se hipotetiza que este rearreglo se originó en una población fundadora de Centro América que luego migró a Sur América. En Colombia se encontró un individuo con cariotipo híbrido, lo que permite sugerir la existencia de una zona de contacto entre las dos poblaciones (Builes *et al*., 2004).

4.5.2 Análisis filogenético

El ADN mitocondrial ha sido ampliamente utilizado como marcador molecular, ya que la molécula entera constituye una unidad genealógica ligada de herencia matrilineal que presenta diferentes tasas evolutivas en sus secuencias, como es el caso de la Región Control y el gen que codifica para Citocromo B, que permiten reconocer la estructura poblacional de las especies y la interpretación filogenética (Avise 2004).

Góngora y Moran (2004) utilizando marcadores moleculares mitocondriales y nucleares reportaron la existencia de dos grandes grupos dentro de la familia Tayassuidae, el primero conformado por las especies *Catagonus wagneri* (pecarí del Chaco) y *Tayassu pecari* (pecarí de labios blancos), y el segundo por *Pecari tajacu* (pecarí de collar). La variación entre las especies de pecaríes se encontró dentro del rango de valores entre géneros de las familias Suidae (0.1075-0.1389), Bovidae (0.0729-0.1892) y Rhinocerotidae (0.0742-0.1547) y sugiere la separación de estas especies en géneros distintos. De otro lado el pecarí de collar o saíno presentó los valores de variación intraespecífica más altos en los marcadores mitocondriales Citocromo b, Región control y 12s ARNr, y los nucleares Pre-1 p27

y Pre-1 p642, esta variabilidad en las secuencias y los registros fósiles plantean dos opciones en la historia evolutiva de la especie, la primera sugiere que su diversificación y separación de las otras dos especies ocurrió antes del establecimiento del puente terrestre entre Centro América y Sur América, y la segunda que la variabilidad fue la respuesta en las poblaciones del pecarí de collar a la heterogeneidad de condiciones ambientales presentes en Sur América propiciando la radiación adaptativa de esta especie. Este autor señala que dilucidar la historia de la familia Tayassuidae precisa de estudios que incluyan la información morfológica y genética a través de su rango de distribución.

La divergencia observada en secuencias entre *Pecari tajacu* y *Tayassu pecari* es corroborada en Adega *et al.,* 2007 en la que por medio de la técnica de Bandeo-C (heterocromatina constitutiva) y el empleo de endonucleasas de restricción se observó la constitución diferencial de la heterocromatina entre estas especies y el elevado polimorfismo presente en *Pecari tajacu*. La alta diversidad en la heterocromatina del pecarí de collar sugiere que esta especie presenta un cariotipo más primitivo y que esta condición favorece la presencia de rearreglos cromosomales.

El estudio realizado por Góngora y colaboradores en el 2006 con secuencias mitocondriales y nucleares de 31 individuos de *Pecari tajacu* del Norte, Centro y Sur América revela con la aproximación filogenética de Máxima Verosimilitud, la conformación de dos grandes clados, el Norte-Central (N-C) y el de Suramérica (S), y una zona híbrida en Colombia definida así por que algunas muestras de origen colombiano se agrupaban en el clado N-C y otras en el S.

5. METODOLOGÍA

5.1 Área de estudio

Las localidades muestreadas (Tabla 2) pertenecen a los departamentos de Colombia que presentaron las condiciones ambientales más favorables para la especie, según el modelo de distribución potencial elaborado por investigadores del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia (Montenegro *et al*., 2008). Al presente estudio se anexaron 8 muestras correspondientes a los departamentos de Bolívar, Boyacá y Meta. Finalmente se obtuvieron 63 muestras de la especie *Pecari tajacu* y 2 de la especie *Tayassu pecari*.

Los animales fueron restringidos físicamente por medio de redes, asegurándolos de patas y manos con cuerdas, al estar inmovilizado el medico veterinario evaluó las constantes fisiológicas como la temperatura corporal, la frecuencia cardiaca, la frecuencia respiratoria y el pulso, monitoreo necesario para conservar la salud del animal. Cada animal fue medido, pesado, se le determinó el sexo, el estado reproductivo y la edad, adicionalmente se tomaron muestras de pelo con folículo, sangre y en algunos casos se tomaron muestras fecales. En cada oportunidad de manipulación se contó con cuatro a cinco personas que sostenían al animal haciendo que el proceso fuera muy rápido de tal manera que el riesgo para el animal y los investigadores fuera el mínimo (Figura 5).

Las muestras de sangre para el análisis genético se conservaron en tarjetas FTA (Whatman Inc.) y el pelo con bulbo fue guardado en bolsas de papel aluminio. Las tarjetas como las muestras de pelo fueron almacenadas en bolsas de cierre

hermético con silica gel y debidamente etiquetadas con el código correspondiente a la orejera colocada a cada animal, la localidad y el sexo. En situaciones en las que no se pudo colocar la orejera se etiquetó la muestra con iniciales que indicaron alguna característica de la muestra, por ejemplo la marca Cab_Ant, indicó que el tejido fue tomado de la cabeza de un animal sacrificado y que esta muestra se colectó en el departamento de Antioquia. También se obtuvo tejido muscular fresco de la punta de la oreja de pecaríes vivos y pecaríes cazados, este material se guardó en tubos de 10 ml con alcohol al 70% (Tapir Specialist Group IUCN en línea).

5.2 Fase de laboratorio

5.2.1 Extracción y cuantificación de ADN

Se utilizaron tres protocolos de extracción, a partir de sangre con las tarjetas FTA, de pelo con la resina Chelex 100 al 20% y tejido muscular con DNeasy Blood & Tissue de Quiagen ®, siendo las dos últimas las utilizadas por la calidad de ADN obtenido.

Luego de cada extracción se evaluó la calidad del ADN por medio de amplificaciones de la subunidad 16 de ADN ribosomal y las muestras se cuantificaron por comparación con el marcador fago λ en un gel de agarosa al 1% con Bromuro de Etidio y también con el equipo nanodrop 2000c.

5.2.2 Amplificación de los marcadores Citocromo B y la Región Control

Las secuencias mitocondriales Citocromo B y Región Control (D-loop) se amplificaron por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con los cebadores o *primers* reportados por la literatura especializada (Tabla 3).

Figura 5. Captura y manipulación de un pecarí de collar. (a) y (b) Uso de una amansa loco y una nasa para capturar el pecarí. (c) Animal restringido físicamente y herido con sus propios colmillos. (d) Toma de muestra de sangre. (e) Colecta de pelos con folículo. (f) Muestra de sangre sobre tarjeta FTA. Imágenes tomadas por Sandra Sabogal.

Para la obtención de los fragmentos fue necesario modificar las concentraciones de $MgCl_2$ y adicionar Dimetil Sulfóxido (DMSO) en una concentración final de 3% del volumen de la reacción y modificar la temperatura de acople (*annealing*) entre los cebadores y el ADN molde con el fin de garantizar la mayor especificidad y cantidad de la secuencia de interés.

Para una reacción de 25 μl las concentraciones finales utilizadas para la PCR fueron las siguientes: Buffer 1x, *primers* o cebadores 0.5mM, dNTPs 0.2mM, $MgCl_2$ 1.5 mM, Taq 1.5u, DMSO 3% y aproximadamente 14 ng/μl de ADN.

Las condiciones de amplificación de la región control con las combinaciones de primer KH-KL y KH-D1F fueron: desnaturalización 95°C - 5 min, 30 ciclos de desnaturalización 94°C - 1 min, acople cebadores y ADN molde (*annealing*) 61°C – 40 seg, extensión 72°C – 2 min y la extensión final 72°C – 5 min. Para la amplificación de Citocromo B con las combinaciones de *primers* MVZ5-MVZ16 y MVZ5-H15915 las condiciones utilizadas fueron las siguientes: Desnaturalización 95°C – 4 min, 35 ciclos de desnaturalización 95°C – 45 seg, acople cebadores y ADN molde (annealing) 55°C – 45 seg, extensión 72°C – 1 min y la extensión final 72°C – 3 min.

5.2.3 Purificación y secuenciación

Los fragmentos amplificados fueron purificados con PureLink™ PCR Purification Kit catalogo N°: K3100-01 de INVITROGEN™. 3μl de cada producto obtenido fue evaluado por medio de una electroforesis horizontal en un gel al 1% de agarosa y visualizadas con bromuro de etidio bajo luz ultravioleta, por medio de este método se verificó la presencia del fragmento de interés, así como la ausencia de bandas inespecíficas y dímeros de cebadores o *primers*. Posteriormente cada muestra amplificada fue concentrada y enviada a Macrogen Corea junto con los *primers*

correspondientes para la secuenciación respectiva. Las muestras fueron secuenciadas más de dos veces en ambas direcciones para certificar la validez de los cambios mutacionales observados.

Tabla 2. Localidades en las que se obtuvo muestras (pelo, sangre o tejido muscular) de la especie *P. tajacu*. La última columna hace referencia a los códigos asignado a cada muestra.

DEPARTAMENTO	MUNICIPIO	COORDENADAS		CÓDIGOS
ANTIOQUIA (ANT)	1. Puerto Berrío	6.27.34,8 N	74.25.36,1 OE	545, CRES, CAB
	2. Amalfy	6.55.37,0 N	75.05.28,7 OE	543
	3. Límies con Santander, Cimitarra	6.21.27,0 N	74.08.26,5 OE	106, 542, 541
ARAUCA (ARA)	4. Arauca	6.50.44,6 N	70.53. 03,9 OE	15
		7.05.25 N	70.45.42 OE	16, 17
	5. Puerto Rondón	6.21.37,7 N	71.08.27,2 OE	103, 104, 105
	6. Tame	6.27.17,4 N	71.44.14,4 OE	049, 6
		6.28.47.3 N	71.42.27,1 OE	451, 599
		6.24.29,6N	71.35.47,9 OE	536, 107
		6.32.03,0 N	71.42.02,8 OE	539, 538
CASANARE (CAS)	7. Yopal	5.11.24,3 N	72.18.29,9 OE	108, 598, 597
		5.13.00,8 N	72.23.29,2 OE	392, 393
		5.08.02,6 N	72,10,20,4 OE	PP
		5.13.0,08 N	72.23.29,2 OE	31, 394, 717, 400, 398, 297, 285
CESAR (CES)	8. A. Codazzi	9.55.53,6 N	73.11.24,8 OE	101
		10.02.00,8 N	73.14.38,9 OE	548
	9. Bosconia	10.00.11,4 N	73.49.59,5 OE	550, 549
	10. Límites con Magdalena, Ariguani	9.58.37,6 N	74.03.05,3 OE	719, 721, 718, 723, 546, 722, CACH
	11. El Paso	9.43.44,2 N	73.43.25,4 OE	715, 713, 714, 720,724, 596,712,725
	12.La Jagua	9.37.57,2 N	73.11.21,6 OE	544
META (MET)	13. Puerto Gaitán	3.13.49 N	73.52.39 OE	CRI1, CRI2, CRI3, CRI4, CRI5
BOYACÁ (BOY)	14. La Paya	5.37.8,1 N	72.29,4.1,3 OE	BOY
BOLÍVAR (BOL)	15. San Agustín	8.10.00 N	74.40.00 OE	SA
	16. Carreto	9.36.00 N	74.55.00 OE	CAR

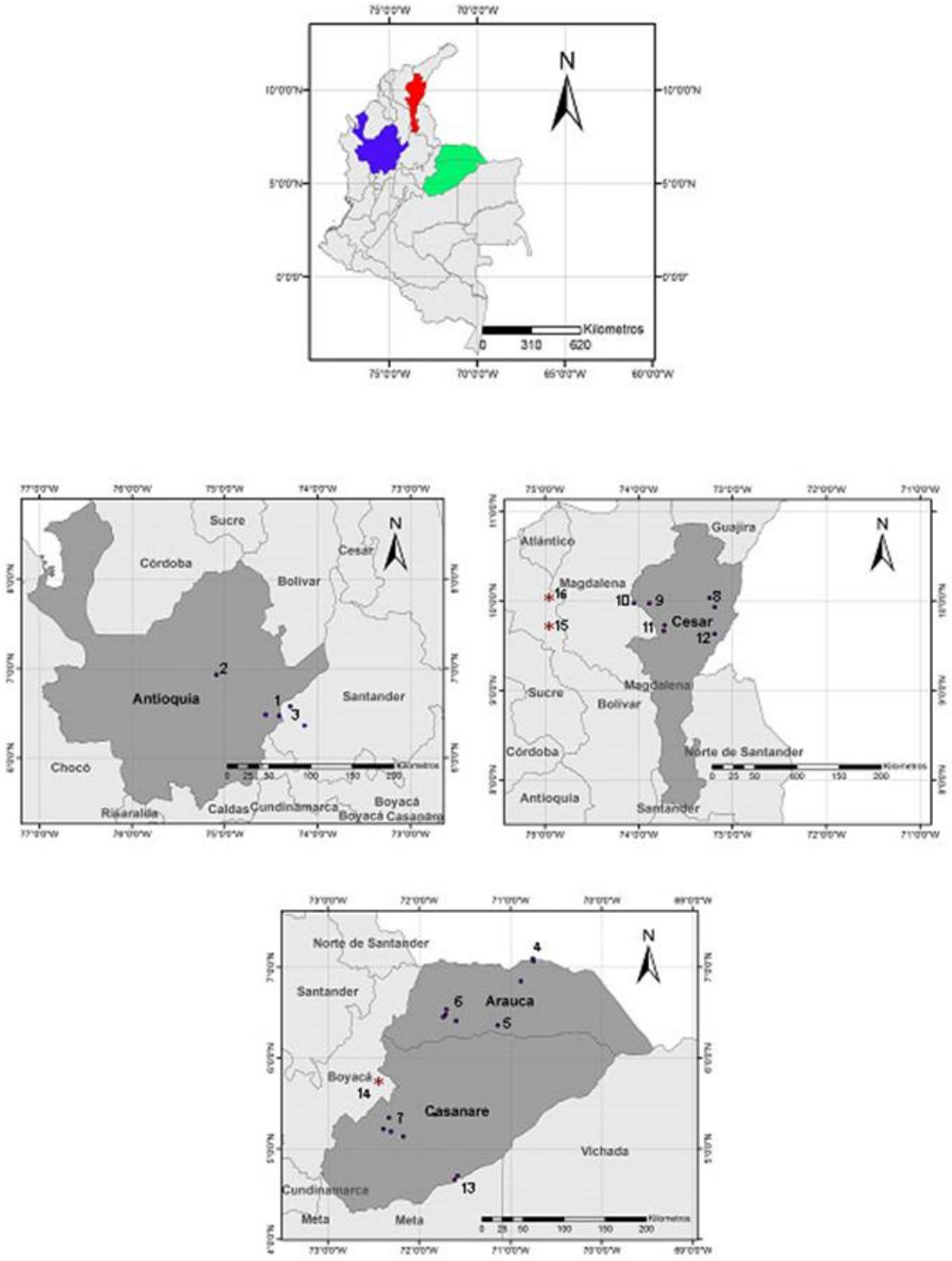

Figura 6. Sitios de muestreo en los departamentos de Antioquia, Cesar, Arauca, Casanare, Meta, Boyacá y Bolívar. Los números indican los municipios relacionados en la Tabla 2.

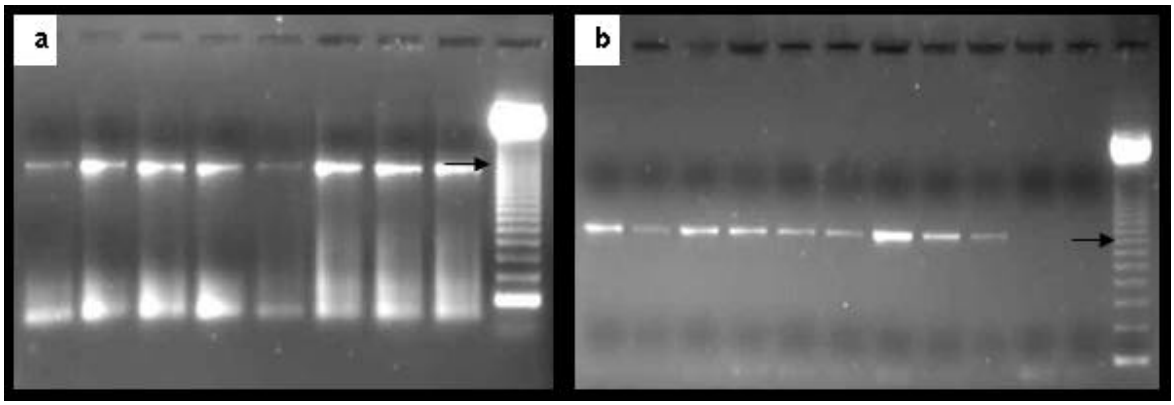

Figura 7. Imágenes de geles de agarosa al 1% visualizados con Bromuro de etidio. (a) Amplificación de la Región control, la flecha indica una tamaño aproximado de 1200 pares de bases. (b) Amplificación del marcador Citocromo b, la flecha indica aprox. 800 pb. En ambos casos se utilizó el marcador de peso molecular 123 de Invitrogen.

Tabla 3. Lista de cebadores (*primers*) utilizados * Secuencia de referencia, *Sus scrofa* AP003428.1. (pb) pares de bases

REGIÓN	NOMBRE	SECUENCIAS 5`A 3`	POSICIÓN* (PB)	FUENTE
REGION CONTROL				
	KIMDLOOPL (KL) (Forward)	CCA AGA CTC AAG GAA GGA G	15363 -15382	Kim et al 2002
	KIMDLOOPH (KH) (Reverse)	GGC GCG GAT ACT TGC ATG TG	115 -134	
	DLOOP1F (DIF) (Reverse)	CGC CAT CAG CAC CCA AAG CT	15391 -15410	Alves et al 2003
CITOCROMO B				
	MVZ 5 (Forward)	CGAAGCTTGATATGAAAAACCATCGTTG	14114 -14141	Smith et al 1993
	MVZ16 (Reverse)	AAATAGGAARTATCAYTCTGGTTTRAT	1308 -1335	Smith et al 1993
	H15915 (Reverse)	AACTGCAGTCATCTCCGGTTTACAAGAC	15330 -15358	Irwin et al., 1991

5.3 Análisis de datos

Las secuencias obtenidas fueron editadas y ensambladas para los correspondientes alineamientos en Sequencher 4.1.4,(Gene Codes), Bioedit (Hall, 1999) y Clustal X versión 2 (Larkin et al., 2007). La traducción de la proteína correspondiente para el gen Citocromo B y el mapeo de las sustituciones sobre las filogenias resultantes a partir de las dos moléculas se realizó en MacClade 4.08 (Maddison y Maddison, 2005). Para proveer un escenario evolutivo completo se realizaron análisis filogenéticos, genético poblacionales y filogeográficos.

La reconstrucción filogenética en este estudio utilizó dos métodos, Máxima Parsimonia e Inferencia Bayesiana. La aproximación con Máxima Parsimonia se realizó por medio del programa PAUP versión 4 beta 10 (Swofford, 2002) y los análisis bayesianos se realizaron con el programa MrBayes versión 3.1.2 usando el servidor en la Universidad de Cornell (Parallel MrBayes@BioHPC).

El análisis de Máxima Parsimonia para los dos marcadores se realizó a partir de una búsqueda heurística en la cual los caracteres no fueron ordenados y el peso asignado fue igual para todos y los espacios generados en los alineamientos de las secuencias de la Región Control fueron considerados como quinto carácter. Para Citocromo b se analizó una matriz de 62 secuencias con una longitud de 810 pares de bases, 57 pertenecientes a la especie *Pecari tajacu* y 5 que correspondieron a secuencias del grupo externo, *Tayassu pecari*, *Sus scrofa*, *Mus*

musculus y *Rattus novergicus* y se tuvo en cuenta 220 sitios informativos y la topología reportada presentó para cada agrupamiento soportes por medio de la técnica de remuestreo de Bootstrap. Para la Región Control se contó con 72 secuencias y una longitud de 1163 pares de bases, el grupo externo estuvo conformado por 6 secuencias, 3 que correspondieron a *Sus scrofa* y las otras tres fueron de *Tayassu pecari, Mus musculus*, y *Rattus novergicus.* La matriz obtenida para este marcador proporcionó para este análisis 517 sitios informativos y de manera semejante al marcador Citocromo B se obtuvieron soportes con la técnica de remuestreo de Bootstrap.

La reconstrucción a partir del método probabilístico bayesiano utilizó la información de los modelos de sustitución reportados por el programa Modeltest 3.7 (Posada y Crandall, 1998). El modelo de mayor verosimilitud para el marcador Citocromo B fue TVM + G, con una forma de la distribución del parámetro gama equivalente a 0.2078 y 6 tipos de sustituciones. De otro lado, el grupo de secuencias de la Región Control se ajusta al modelo HKY + G, con dos tipos de sustituciones y una forma de la distribución del parámetro gamma equivalente a 1.5266. Los análisis utilizaron dos corridas de 10.000.000 de generaciones y cuatro cadenas MCMC (Markov Chain Monte Carlo).

Adicionalmente se utilizaron los dos métodos con una matriz nueva que presentó la información de los dos marcadores con una longitud total de 1973 caracteres y 83 secuencias en el grupo interno y cuatro secuencias en el grupo externo, *Tayassu pecari*, *Sus scrofa*, *Mus musculus* y *Rattus norvegicus*. En Máxima Parsimonia se analizaron 750 caracteres informativos y los soportes correspondieron a un bootstrap con 1000 réplicas y en Inferencia Bayesiana se realizaron dos corridas con 10.000.000 de generaciones y cuatro cadenas de Markov (MCMC).

La descripción de la diversidad genética de las poblaciones de *P. tajacu* en cada localidad muestreada se realizó gracias a los programas Dnasp v5 (Librado y Rozas, 2009), Mega versión 4 (Tamura et al., 2007), Arlequín (Excoffier et al., 2005). En este último programa se realizaron los análisis de varianza molecular, AMOVAs de las secuencias obtenidas en este estudio, para ello se utilizaron 10000 permutaciones y el método de distancia de Tamura que tiene en cuenta múltiples sustituciones por sitio, diferentes tasas de sustitución entre transiciones y transversiones y una frecuencia nucleotídica desigual. Adicionalmente se tuvo en cuenta la tasa de sustitución heterogénea entre sitios obtenida en el programa *Modeltest*, 0,0179 para citocromo b y 0,9141 para la Región Control.

El flujo génico, las pruebas de neutralidad y la correlación entre la distancia genética de los haplotipos obtenidos y la distancia física se obtuvo con los programas Dnasp v5 (Librado y Rozas, 2009), GenALEx 6.1 (Peakall y Smouse., 2006) y PASSAGE 1.0 (Rossenberg, 2001).

Los análisis filogeográficos basados en clados anidados (Templeton, 1998) se realizaron con los programas TCS1. 21 (Clement et al., 2000), Geodis 2.6 (Posada et al., 2000) y ANeCA (Panchal 2007). De otro lado, con el programa Migrate (Beerli y Felsenstein, 1999) se calcularon los parámetros poblacionales Theta θ y la tasa de Inmigración *M* a partir de simulaciones de las relaciones genealógicas de las secuencias de los dos marcadores, Citocromo B y Región Control.

Utilizando únicamente las secuencias del Citocromo B se calcularon los tiempos de divergencia con dos puntos de calibración, 10 millones de años entre las especies *Mus musculus* y *Rattus novegicus*, y 7 millones de años entre los Pecarie y Tayassu-Catagonus (Góngora y Moran, 2005). Este análisis se realizó en el programa BEAST (Drummond y Rambaut, 2007), y se consideró en la datación un reloj molecular relajado no correlacionado en el que se permite diferentes tasas de

evolución dentro de los clados con la premisa de no correlación entre las tasas de cada rama (Lemey *et al*., 2009).

Finalmente, la edición de los árboles resultantes en cada análisis se realizó con los programas Fig tree V1.3.1 (Rambaut, 2009) y Adobe Photoshop cs versión 8.0.1.

6. RESULTADOS

En este estudio se obtuvieron 59 secuencias de Citocromo b y 63 de la Región control, esta información fue editada con el programa Sequencher 4.1.4, adicionalmente cada secuencia fue comparada con la información disponible en Genbank por medio de la herramienta de alineamiento local *Blastn*, que permitió establecer en todos los casos una identidad del 97-99% de las secuencias obtenidas con lo reportado para la especie *Pecari tajacu*. Las secuencias idénticas que pertenecieron a individuos emparentados fueron eliminadas de los análisis filogenéticos para facilitar la resolución de los grupos o linajes filogenéticos y posteriormente fueron incluidas para los análisis poblacionales y filogeográficos.

Para complementar los análisis filogenéticos se incluyeron 29 secuencias publicadas en Góngora *et* al., 2006, disponibles en la base de datos GenBank del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), 5 secuencias de especies consideradas como grupo externo para Citocromo B y 7 para la Región Control (Tabla 4).

Posterior a la edición se obtuvieron dos matrices: la correspondiente al marcador Citocromo B contó con 810 nucleótidos de longitud, una vez realizada la traducción correspondieron a 270 aminoácidos (71.2%) de 379 aa reportados para *Pecari tajacu* (Número de Accesión: YP_002601097.1) y la matriz de la Región Control estuvo representada por 1163 nucleótidos que correspondieron a 41 nucleótidos adicionales según la secuencia referencia de Genbank, número de Accesión: AY546552.1 (Góngora *et al.,*2006).

Las secuencias de la Región Control presentaron un motivo en tándem de 10 nucleótidos: TACACGTGCG, cuyo número varió entre 18 a 30 repeticiones. Para

facilitar el alineamiento de las secuencias obtenidas y las reportadas por Góngora y colaboradores en 2006 dichas repeticiones se eliminaron de la matriz de datos.

6.1 Composición nucleotídica

La matriz de Citocromo B presentó la siguiente composición en bases nitrogenadas, A: 31.9%, C: 30,7%, T: 25,0% y G: 12,4%, y la Región Control A: 32,7%, T: 28,7%, C: 25,1% y G: 13,5%.

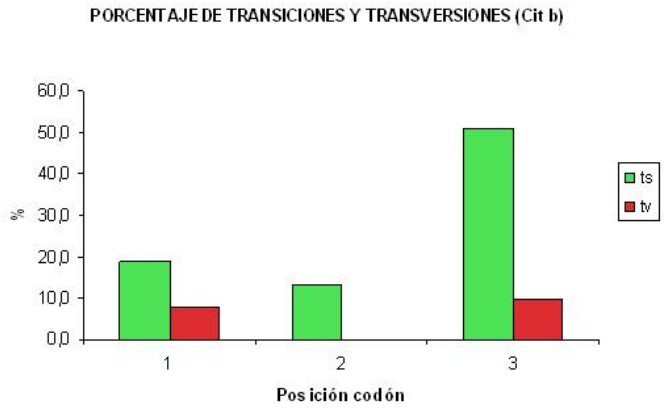

Figura 8. Porcentaje de transiciones y transversiones por posición en el codón de la matriz de secuencias de Citocromo b.

Los individuos de la especie estudiada presentaron los mayores porcentajes de sustituciones tipo transición en la tercera posición del codón (Figura 8), sustituciones que correspondieron en la secuencia de aminoácidos a cambios sinónimos (Figura 9).

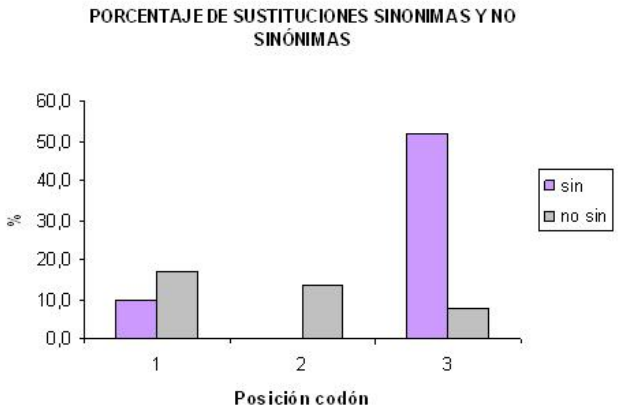

Figura 9. Porcentaje de sustituciones sinónimas y no sinónimas por posición en el codón (secuencias de Citocromo b).

6.2 Análisis filogenéticos

6.2.1 Máxima Parsimonia

Los análisis filogenéticos y la comparación de los resultados fueron posibles por que se contó con la información de los dos marcadores para la mayoría de muestras de pecarí de collar para cada sitio de muestreo.

6.2.1.1 Citocromo b

El árbol resultante y los soportes de bootstrap evidenciaron la existencia de tres linajes intraespecíficos (Figura 10), que fueron denominados Norte, Sur 1 y Sur 2, siguiendo la nomenclatura adoptada en Góngora *et al.,* 2006, que hace referencia a la relación de las secuencias de las poblaciones de pecaríes colombianos con

las secuencias de individuos de Estados Unidos y México, clado Norte (N) y las secuencias de Argentina y Bolivia, clado Sur (S).

Las secuencias MEX1, USA4, USA5, MEX4, MEX5, MEX2, MEX3, USA1, UNK2, COL2, COL6, COL5, COL4 y COL3 y las obtenidas en este trabajo que corresponden al departamento de Antioquia como 541_ANT, 542_ANT, CAB_ANT, CRES_ANT, 106_ANT y 545_ANT, así como tres muestras del departamento del Cesar y Bolívar, 544_CES, SA_BOL y CAR_BOL, y una muestra del departamento del Casanare 597_CAS, se agruparon en el grupo denominado Clado Norte (N), con soporte de bootstrap del 73%, (grupo azul, Figura 10).

También se observó un segundo agrupamiento con un soporte del 98% en el cual se encuentran las secuencias publicadas en Genbank de Argentina (ARG2, ARG3 y ARG4), Bolivia (BOL2), Colombia (COL10, COL8, COL7 y COL1) y las secuencias obtenidas en este estudio de los departamentos de Arauca, Casanare, Meta, Boyacá y Cesar. Este clado se denominó Sur (S) siguiendo la nomenclatura propuesta por Góngora *et al*., 2006.

Este grupo presentó dos subclados, que se nombraron Sur 1(85%) y Sur 2 (100%). El subclado Sur 1 (S1) estuvo conformado en su mayoría por muestras del César 715_CES, 712_CES, 713_CES, 719_CES, 101_CES, 548_CES y 720_CES, dos muestras del departamento de Arauca 105_ARA y 539_ARA, y la secuencia publicada COL9 (grupo rojo, Figura 10).

De otro lado en el subclado Sur 2 (S2) se encontraron las muestras de los departamentos Arauca (103_ARA, 17, 16, 049, 451, 538, 15, 107), Casanare (108_CAS, 398, 394, 393, 598), Boyacá (1_BOY), Meta (CRI1_MET), y las secuencias de Argentina, Bolivia y Colombia (COL1, 7, 8 y 10) (grupo verde, Figura 10).

Tabla 4. Lista de secuencias adicionales utilizadas en los análisis filogenéticos. [1 a 4] Secuencias obtenidas en este trabajo. Las secuencias 30 a 33 conforman el grupo externo. N.R. origen no registrado en Genbank.

No.	SECUENCIAS	NO. ACCESIÓN GENBANK		ORIGEN
	Nombre	Citocromo B	Región Control	País, Zoológico y/o lugar
1	ARG 1	DQ179081.1	AY546565.1	Norte de Argentina, Parque Ecológico Urbano
2	ARG 2	DQ179080.1	AY546564.1	Norte de Argentina, Parque Ecológico Urbano
3	ARG 4	DQ179084.1	AY546568.1	Norte de Argentina, La Máxima
4	BOL 1	DQ179082.1	AY546566.1	Norte de Bolivia, Mallasa
5	BOL 2	DQ179083.1	AY546567.1	Norte de Bolivia, Mallasa
6	COL 1	DQ179079.1	AY546563.1	Sur oriente de Colombia, Santa Cruz
7	COL 2	DQ179071.1	AY546555.1	Sur de Colombia, Jaime Duque
8	COL 3	DQ179072.1	AY546556.1	Centro de Colombia, Matecaña
9	COL 4	DQ179057.1	AY546541.1	Centro de Colombia, Matecaña
10	COL 5	DQ179056.1	AY546540.1	Norte de Colombia, Santafé
11	COL 6	DQ179055.1	AY546539.1	Norte de Colombia, Barranquilla
12	COL 7	DQ179078.1	AY546562.1	Norte de Colombia, La Lagartija
13	COL 8	DQ179076.1	AY546560.1	Sur de Colombia, La Lagartija
14	COL 9	DQ179075.1	AY546559.1	Colombia, Calí
15	COL 10	DQ179077.1	AY546561.1	Caquetá, Colombia,Granja Macagual
16	MEX 1	DQ179066.1	AY546550.1	México, Guadalajara
17	MEX 2	DQ179070.1	AY546554.1	México, Guadalajara
18	MEX 3	DQ179062.1	AY546546.1	México, Puebla
19	MEX 4	DQ179060.1	AY546544.1	México, Puebla
20	MEX 5	DQ179058.1	AY546542.1	México, Chapultepec
21	MEX 6	DQ179059.1	AY546543.1	México, Chapultepec
22	MEX 7	DQ179061.1	AY546545.1	México, Chapultepec
23	MEX 8	DQ179063.1	AY546547.1	México, Chapultepec
24	UNK 1	DQ179073.1	AY546557.1	Australia - Adelaide, origen desconocido
25	UNK 2	DQ179074.1	AY546558.1	Australia - Adelaide, origen desconocido
26	USA 1	DQ179068.1	AY546552.1	Estados Unidos - Arizona, San Diego
27	USA 2	DQ179069.1	AY546553.1	Estados Unidos - Arizona, San Diego
28	USA 3	DQ179067.1	AY546551.1	Estados Unidos - Arizona, San Diego
29	USA 5	DQ179065.1	AY546549.1	Estados Unidos - Texas, San Diego
30	*Tayassu pecari*	[1]537_TP y 2 TP	[2]AY546519.1	[1]Colombia, Arauca y Meta respectivamente [2]Estados Unidos, San Diego.
31	*Sus scrofa*	[3] DQ444708.1	[4]40_SUS, 540_SUS y, 25_SUS. SUS_D16483.1	[3]Papúa-Nueva Guinea. [4]Colombia-Casanare
32	*Mus musculus*	HM222709.1	V00711.1	N.R
33	*Rattus norvegicus*	X14848.1	X14848.1	N.R

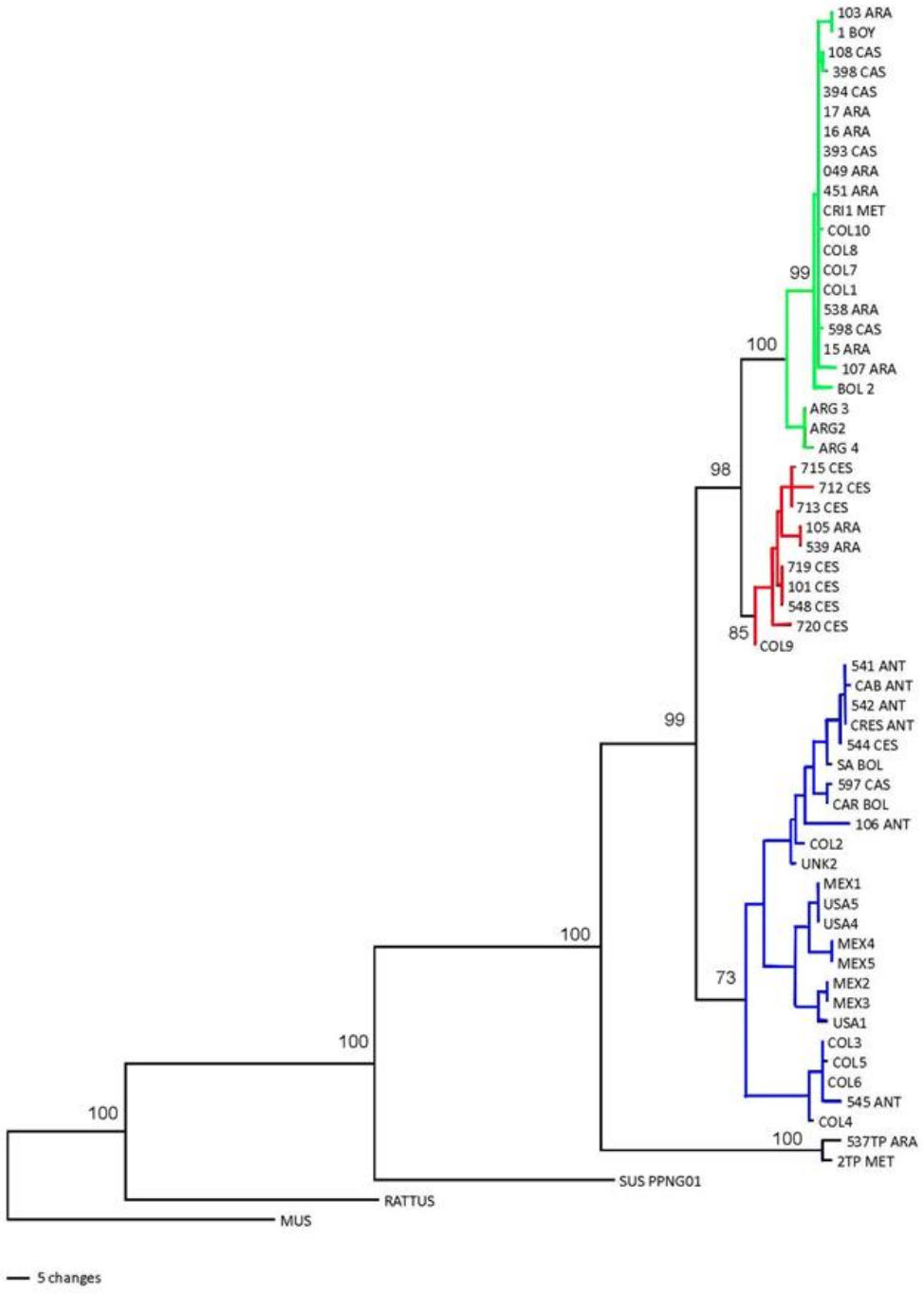

Figura 10. Árbol consenso (50% regla de la mayoría) con los soportes correspondientes a bootstrap con 1000 réplicas de las secuencias de Citocromo B. Cluster Norte se indica con el color azul, el Sur 1 con el rojo y el Sur 2 con el verde. Longitud= 550, índice de consistencia=0.713 e índice de retención=0.891.

6.2.1.2 Región control

La topología resultante evidenció tres grupos que corresponden a los identificados anteriormente como Norte, Sur 1 y Sur 2 (Figura 11). En el grupo Norte se encuentran las secuencias de individuos de origen Mexicano (MEX_1, 2, 3, 4, 6, 8), Estadounidense (USA 1, 2, 3, 4 y 5), Colombianas (COL 2, 3, 4, 5 y 6) incluyendo las muestras obtenidas de Antioquia (541_ANT, Cres, Cab, 106 y 545), Cesar (544_CES) y Casanare (597_CAS). De igual manera que lo observado en el árbol concenso para el marcador Citocromo B, en la Región Control se observa la presencia de un segundo grupo denominado Sur (soporte 88%) que a su vez presenta dos subclados diferenciados, S1 (65%) y S2 (83%).

Al comparar los árboles resultantes de cada marcador se encontró que la mayoría de las muestras se agrupan en los mismos clados con algunas pocas excepciones como son las secuencias 107_ARA y COL8 que en el árbol resultante de Citocromo B se agruparon en el subclado Sur 2 y en el árbol de la Región Control se encontraron en el subclado Sur 1.

6.2.2 Inferencia Bayesiana

6.2.2.1 Citocromo b

El árbol resultante del análisis bayesiano (Figura 12) muestra los tres clados antes observados en los árboles de parsimonia Norte (N), Sur 1 (S1) y Sur 2 (S2) con la probabilidad posterior de 0,84, 0,51 y 0,99 respectivamente. Con excepción de las muestras de Argentina (ARG_3, 2 y 4) que se agruparon en un clado aparte del grupo Sur 2, las demás muestras se encontraron en los mismos grupos observados en el árbol de parsimonia.

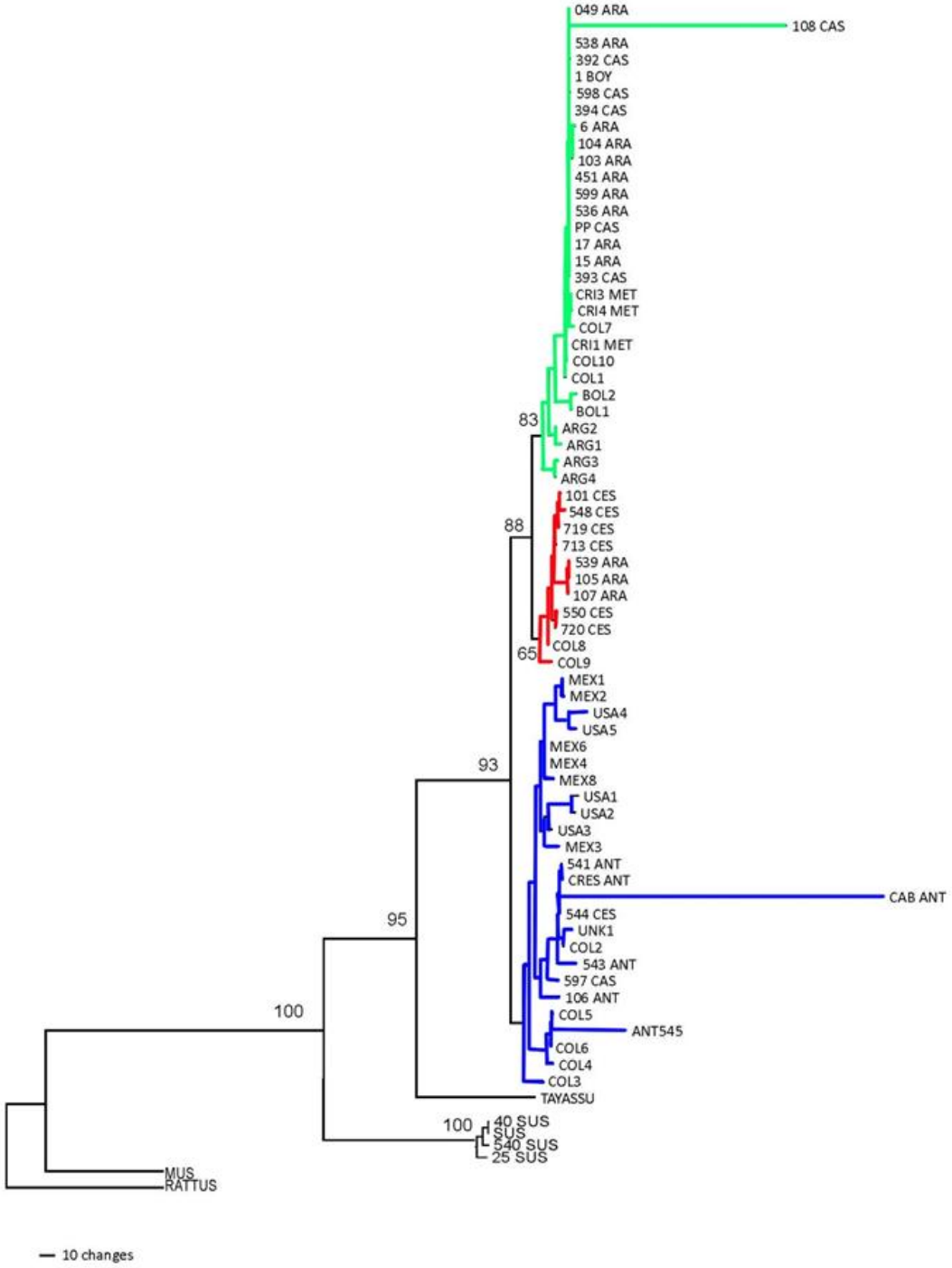

Figura 11. Árbol consenso (50% regla de la mayoría) con los soportes correspondientes a *bootstrap* con 1000 réplicas de las secuencias de la Región Control. Cluster Norte se indica con el color azul, el Sur 1 con el rojo y el Sur 2 con el verde. Longitud=1612, índice de consistencia=0.754 e índice de retención=0.848.

6.2.2.2 Región control

Los agrupamientos observados en el árbol de este análisis confirma de nuevo la presencia de tres grupos o clados mayores N, S1 y S2.

A diferencia del árbol obtenido para Citocromo B, éste presenta mayor resolución de los grupos, cada uno de ellos con valores altos de probabilidad posterior (Figura 13).

De igual manera que el árbol del análisis de Parsimonia de la Región Control las secuencias se agruparon en los mismos clados, lo que permite establecer la presencia en Colombia de por lo menos dos linajes evolutivos de la especie *P. tajacu*.

6.2.3 Región Control y Citocromo B, datos combinados

Las pruebas de congruencia Kishino-Hasegawa y Shimodaira-Hasegawa rechazaron significativamente la hipótesis de no diferencias entre los árboles obtenidos para cada marcador (KH, T= 8.3613, $p<0.0001$; SH $p=0.00$), sin embargo las topologías encontradas en los análisis de parsimonia y de inferencia bayesiana nuevamente revelaron la existencia de dos grandes clados Norte y Sur, y la subdivisión de éste último en Sur 1 y Sur 2 (Figura 14 y Figura 15).

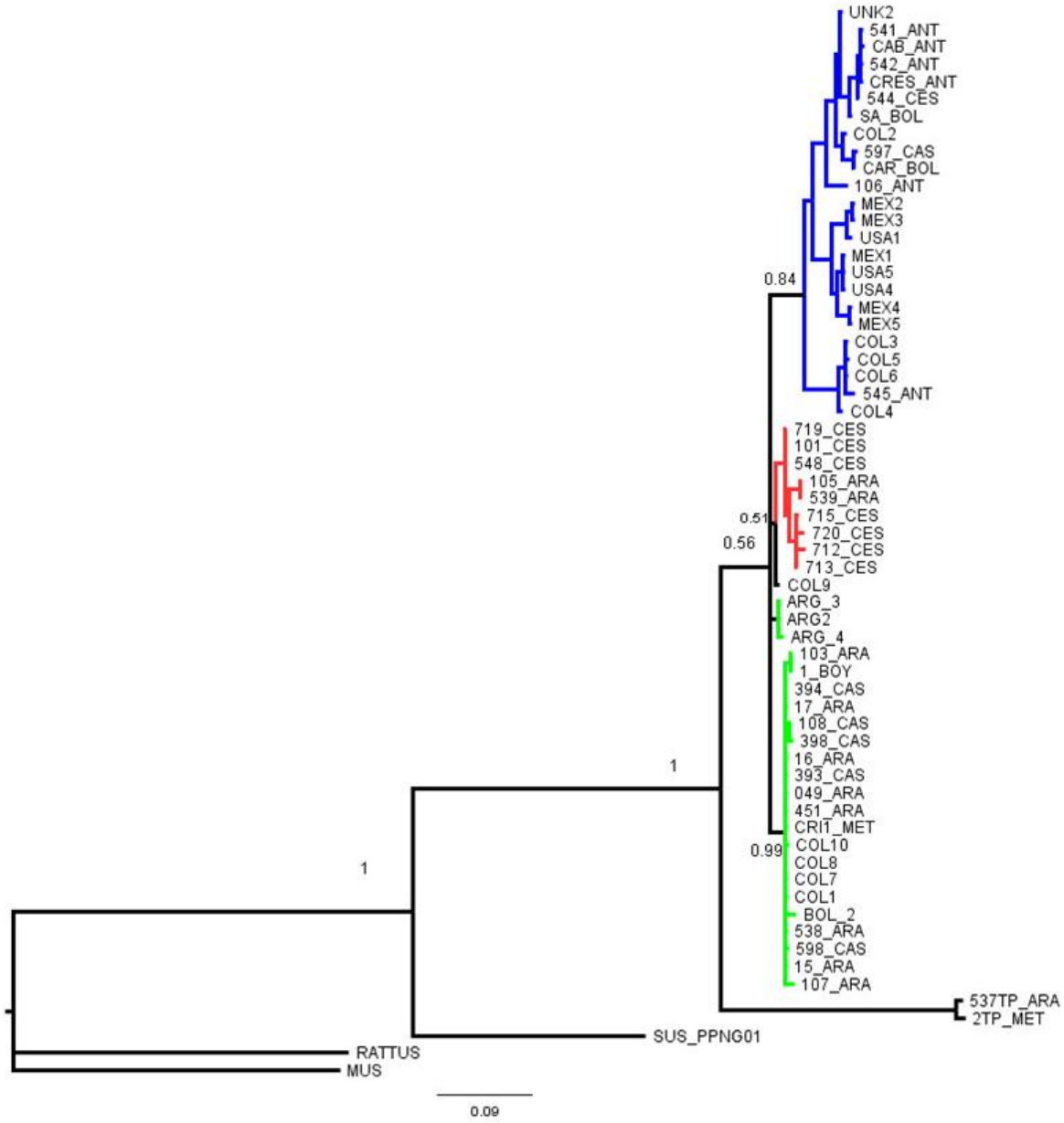

Figura 12. Árbol correspondiente al análisis Bayesiano de las secuencias correspondientes al marcador Citocromo b, valores sobre las ramas indican la probabilidad posterior. Cluster Norte se indica con el color azul, el Sur 1 con el rojo y el Sur 2 con el verde.

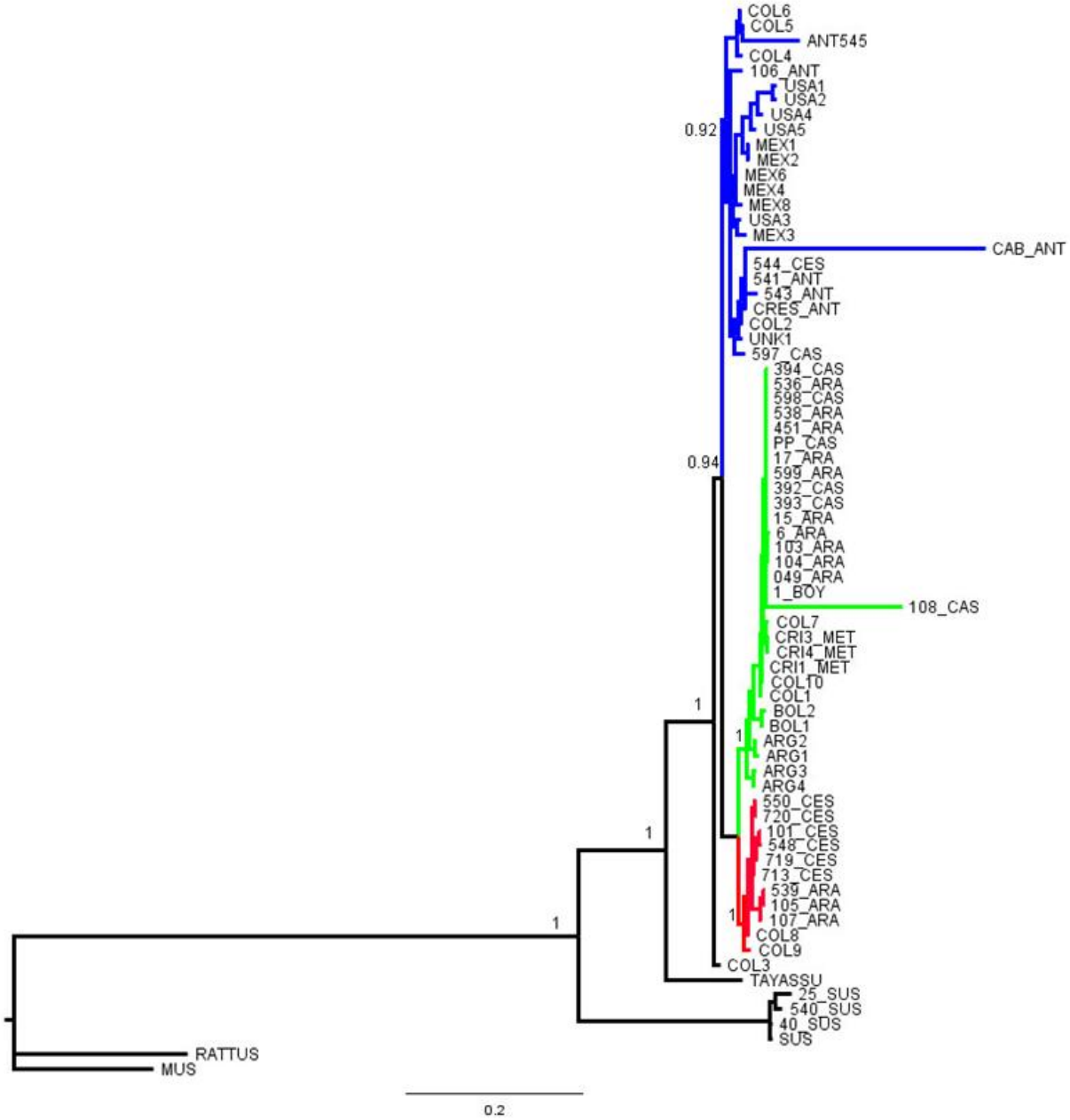

Figura 13. Árbol correspondiente al análisis Bayesiano de las secuencias de la Región control, valores sobre las ramas indican la probabilidad posterior. Cluster Norte se indica con el color azul, el Sur 1 con el rojo y el Sur 2 con el verde.

6.2.4 Distancias genéticas

A partir de la información obtenida de los análisis filogenéticos se calcularon las distancias absolutas pareadas promedio dentro y entre cada clado (Tabla 5).

Los valores más altos de divergencia para los dos marcadores analizados se encontraron dentro del clado Norte con 2 a 4% y entre los clados Norte y Sur con el 5%.

Tabla 5. Distancia genética entre las secuencias analizadas en este trabajo. * Desviación estándar.

Grupos	Citocromo B	Secuencias comparadas	Región control	Secuencias comparadas
Clado Norte	0,0273 ± *0,0139	24	0,0439 ± 0,0512	25
Clado Sur	0,0052 ± 0,0058	33	0,0185 ± 0,0317	40
Clado Norte y Sur	0,0542 ± 0,0048	57	0,0582 ± 0,0415	65
Clado Norte y Sur 1	0,0503 ± 0,0043	34	0,0520 ± 0,0362	36
Clado Norte y Sur 2	0,0558 ± 0,0041	47	0,0608 ± 0,0433	54
Entre géneros de la familia Tayasuidae Pecarí/Tayassu	0,1150 ± 0,0027	59	0,1884 ± 0,0249	66
Entre Suidae y Tayassuidae	0,1611 ± 0,0056	60	0,2351 ± 0,0225	70

En las distancias genéticas del clado Norte de Citocromo B se destaca la muestra 545_ANT que presenta valores de divergencia promedio de 4,6 % respecto a las secuencias que hacen parte del mismo grupo. Esta secuencia fue obtenida a partir de la edición de tres secuencias *forward* y una *reverse*, y corresponde a un pecarí macho localizado en el municipio de Puerto Berrío, Antioquia.

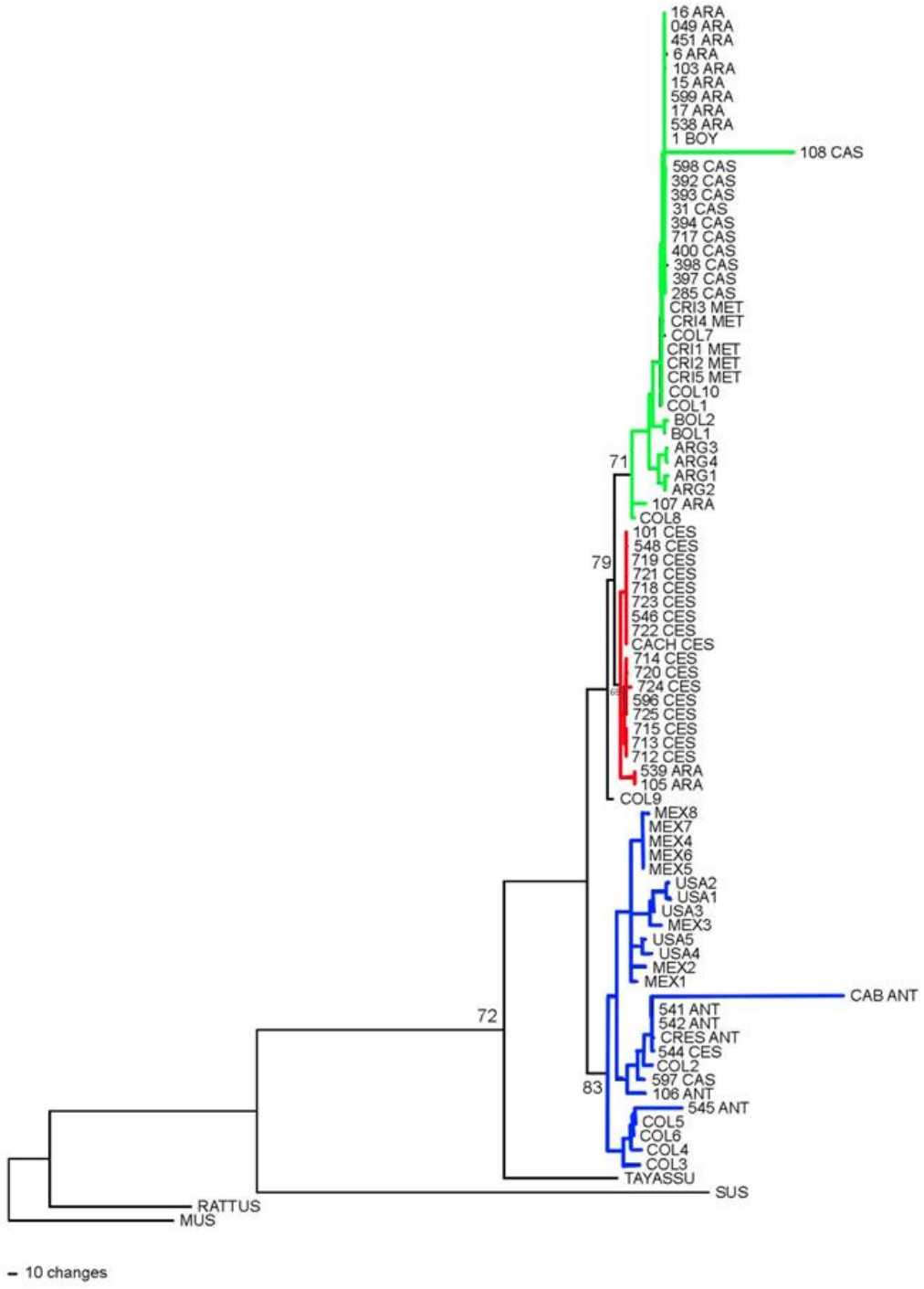

Figura 14. Máxima parsimonia, árbol consenso (50% regla de la mayoría) que corresponde a los datos combinados de Citocromo b y la Región Control. Longitud=2595, índice de consistencia=0.692 e índice de retención=0.813.

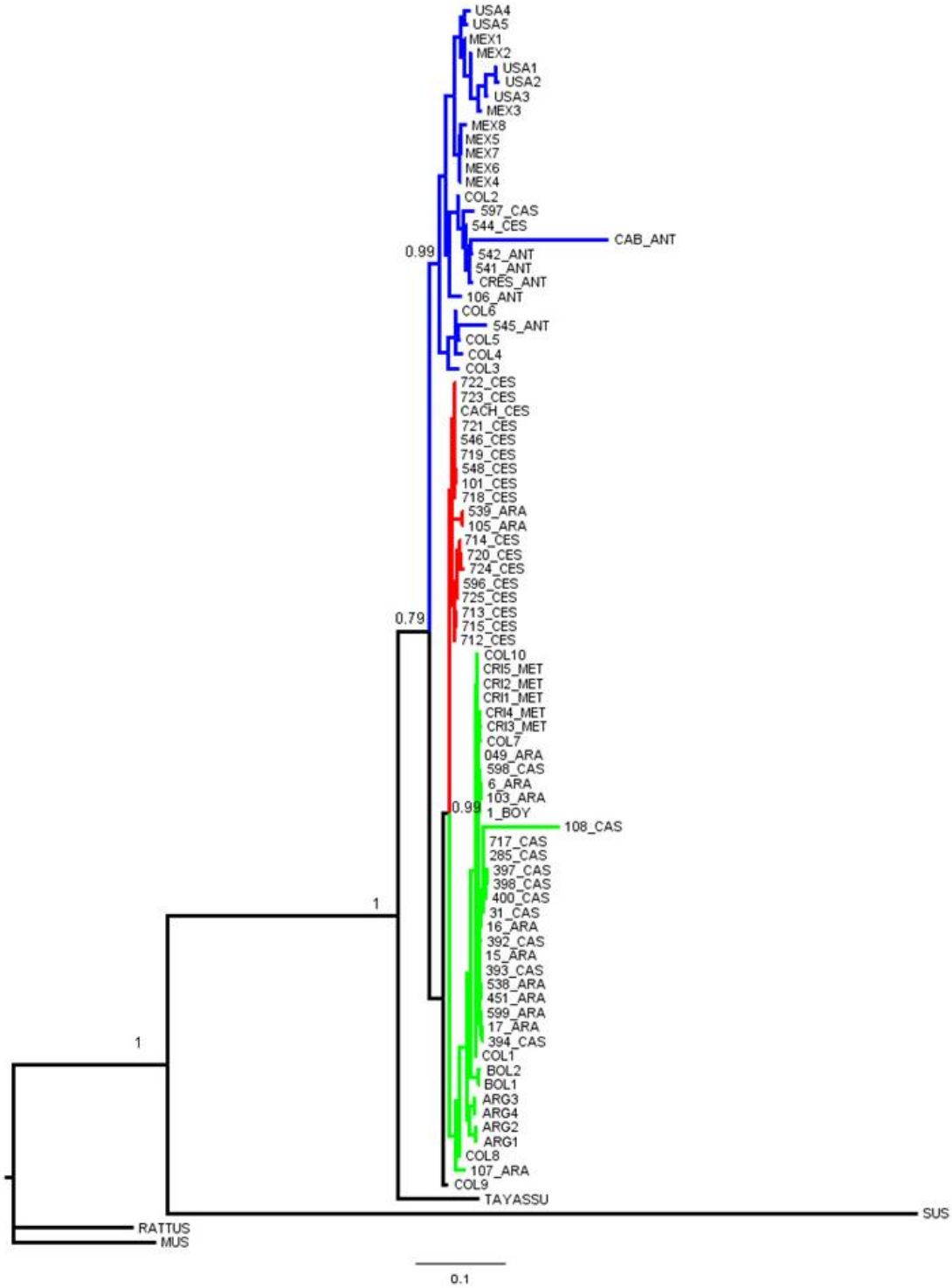

Figura 15. Análisis bayesiano, árbol consenso con los datos combinados de Citocromo B y la Región Control. El número sobre las ramas indica la probabilidad posterior.

El siguiente valor más alto de divergencia correspondió a la secuencia marcada como 106_ANT, con una distancia promedio dentro del Clado Norte del 2%, esta muestra corresponde a una hembra pecarí que fue obtenida en los límites entre Antioquia y Santander, Municipio de Cimitarra.

En las secuencias de la Región Control, se encontró que la muestra CAB_ANT en el clado Norte presentó una distancia promedio de 20%, esta información se obtuvo de tejido muscular extraído de una cabeza de un pecarí cazado facilitado por los familiares de un cazador en una zona cercana a Puerto Berrío, Antioquia. La edición de la secuencia fue el resultado del acoplamiento de tres secuencias, dos en sentido forward y una reverse. De forma similar a lo encontrado en el marcador Citocromo B, la secuencia 545_ANT presentó el segundo valor más alto de divergencia dentro del clado, entre 10 y 12%.

De otro lado la muestra 108_CAS presentó una divergencia de 12% de las secuencias que se encontraron dentro del mismo clado, Sur 2. Esta secuencia se obtuvo del alineamiento y edición de cuatro secuencias forward y tres secuencias reverse. El individuo del cual se tomó la muestra correspondió a una hembra que se localizó en una finca en Yopal, Casanare.

6.2.5 Cambios Sinónimos y No Sinónimos entre los grupos intraespecíficos

A partir del árbol consenso obtenido del análisis de parsimonia de las secuencias de Citocromo B y de la matriz de aminoácidos obtenida en el programa MacClade 4.08 (Maddison y Maddison, 2005) se realizó una búsqueda del número y clase de cambios nucleotídicos y aminoácidicos que pueden definir los diferentes clados encontrados: familia Tayassuidae, la especie *Pecari tajacu* y los subgrupos observados dentro de ésta, clados Norte, Sur 1 y Sur 2.

Treinta cambios nucleotídicos definen la Familia Tayassuidae, los cuales corresponden a 15 transversiones y 15 transiciones, estos a su vez constituyen 16 cambios sinónimos y 14 no sinónimos; de estos últimos, 9 cambios representaron modificación en la clase de aminoácido (Tabla 6).

Tabla 6.Cambios no sinónimos que definen la familia Tayassuidae en este estudio (57 individuos *Pecari tajacu* y 2 individuos *Tayassu pecari*). * cambio de grupo funcional del aminoácido.

SITIO	TAYASSUIDAE	*SUS SCROFA*
49*	Treonina, Neutro polar	Alanina, Neutro no polar
67*	Treonina, Neutro polar	Alanina, Neutro no polar
113	Alanina, Neutro no polar	Glicina, Neutro no polar
169*	Prolina, Neutro no polar	Serina, Neutro polar
354	Isoleucina, Neutro no polar	Valina, Neutro no polar
363	Leucinai, Neutro no polar	Fenilalanina, Aromático no polar
538*	Treonina, Neutro polar	Alanina, Neutro no polar
578	Valina, Neutro no polar	Alanina, Neutro no polar
634*	Prolina, Neutro, no polar	Serina, Neutro polar
635*	Prolina, Neutro, no polar	Serina, Neutro polar
636*	Prolina, Neutro, no polar	Serina, Neutro polar
700	Leucina, Neutro, no polar	Fenilalanina, Aromático no polar
796*	Serina, Neutro, polar	Prolina, Neutro no polar
798*	Serina, Neutro, polar	Prolina, Neutro no polar

6.2.5.1 La especie *Pecari tajacu*

Para este análisis se utilizaron 57 secuencias de las 65 obtenidas ya que se eliminaron aquellas que eran semejantes y que correspondieron al mismo grupo o manada. De la matriz obtenida para Citocromo B se encontraron 53 cambios nucleotídicos que los separó de la otra especie de pecarí, *Tayassu pecari* (grupo externo), de estos cambios 44 fueron transiciones y 9 transversiones. En la secuencia proteica, el grupo fue definido por 32 sustituciones sinónimas y 20 No sinónimas (Tabla 7).

6.2.5.2 Clados y Subclados dentro de la especie *Pecari tajacu*

El grupo de individuos del Norte (N) presentó tanto en Citocromo b como en la Región control el mayor número de cambios nucleotídicos (Figura 17), siendo la transición Timina-Citosina (TC), el evento más frecuente. Cinco cambios nucleotídicos definieron el subclado N, todos tipo transición, que en la proteína correspondieron a tres sustituciones sinónimas (Asparagina, Leucina, Fenilalanina) y dos no sinónimas (Tabla 8 y Figura 16).

El grupo que hace parte del Norte y en donde se encontraron las muestras 545_ANT, COL3, COL4, COL5 y COL6 se definió por cinco cambios nucleotídicos tipo transición que correspondieron a cambios sinónimos en la proteína (Prolina, Glicina, Lisina, Serina y Alanina)

Las secuencias 545 y 106 de Antioquia que tuvieron los valores más altos de divergencia dentro del clado Norte, de manera conjunta presentaron un cambio nucleotídico en la posición 261, cambio que correspondió a una transición que en la proteína fue sinónimo y correspondió al aminoácido Alanina. Adicionalmente, el individuo 106_ANT en contraste a las demás secuencias de la familia presentó un cambio nucleotídico transicional que correspondió a una sustitución sinónima en la proteína, aminoácido Leucina.

El subgrupo conformado por las muestras de origen estadounidense y las muestras mexicanas 1, 2, 3, 4 y 5 presentaron 4 cambios (3 transiciones y 1 transversión), que correspondieron a cambios sinónimos en la proteína.

Las secuencias UNK2, COL2, 541_ANT, CAB_ANT, 542_ANT,CRES_ANT, 544_CES, SA_BOL, 597_CAS, CAR_BOL y 106_ANT presentaron dos cambios nucleotídicos transicionales que en la proteína correspondieron a cambios sinónimos, Leucina y Metionionina

Tabla 7.Cambios no sinónimos que definen los individuos *Pecari tajacu*. * cambio de grupo funcional del aminoácido.

Sitio	*Pecari tajacu*	*Tayassu pecari*
77	Asparagina, Neutro Polar	Serina, Neutro polar
124	Leucina, Neutro no polar	Valina, Neutro no polar
166	Treonina, Neutro polar	Serina, Neutro polar
251	Alanina, Neutro no polar	Valina, Neutro no polar
331*	Ácido glutámico, Ácido,	Lisina, Básico
344*	Isoleucina, Neutro no polar	Treonina, Neutro polar
355	Leucina, Neutro no polar	Isoleucina, Neutro no polar
365*	Treonina, Neutro polar	Metionina, Neutro no polar
367*	Valina, Neutro no polar	Treonina, Neutro polar
368*	Valina, Neutro no polar	Treonina, Neutro polar
369*	Valina, Neutro no polar	Treonina, Neutro polar
490	Isoleucina, Neutro no polar	Valina, Neutro no polar
553	Leucina, Neutro no polar	Fenilalanina, Aromático no polar
555	Leucina, Neutro no polar	Fenilalanina, Aromático no polar
640*	Asparagina, Neutro polar	Ácido aspártico, Ácido
697*	Treonina, Neutro polar	Metionina, Neutro no polar
698*	Treonina, Neutro polar	Metionina, Neutro no polar
699*	Treonina, Neutro polar	Metionina, Neutro no polar
756	Ácido aspártico, Ácido	Ácido glutâmico, Ácido
722	Leucina, Neutro no polar	Fenilalanina, Aromático no polar

Tabla 8. Cambios no sinónimos que definen los individuos *Pecari tajacu* del clado Norte.

SITIO	***PECARI TAJACU*, GRUPO NORTE**	***PECARI TAJACU*, GRUPO SUR**
73	Prolina, Neutro no Polar	Serina, Neutro polar
713	Isoleucina, Neutro no polar	Treonina, Neutro polar

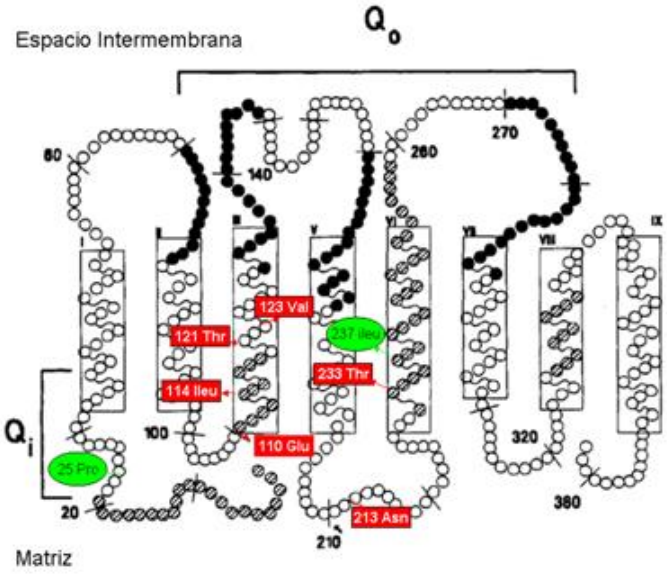

Figura 16. Modelo de la proteína Citocromo B (Howell, 1989, Irwin, 1991). Los bloques rojos corresponden a los aminoácidos que se encuentran en la secuencia de *Pecari tajacu,* (cambios no sinónimos, tabla 7). Los óvalos verdes son los cambios no sinónimos que separan los individuos que conforma el grupo Norte del Sur.

Las secuencias que se encuentran en el grupo Sur (S) presentaron dos cambios nucleotídicos tipo transición que definieron el grupo y que en la proteína correspondieron a sustituciones sinónimas de los aminoácidos Glicina y Leucina. El subclado Sur 2 (S2), presentó tres cambios nucleotídicos tipo transición que en la proteína correspondieron a sustituciones sinónimas (Leucina, Treonina y Glicina). De otro lado, los individuos del subclado S1 no presentaron cambios únicos que los separaran del grupo S2.

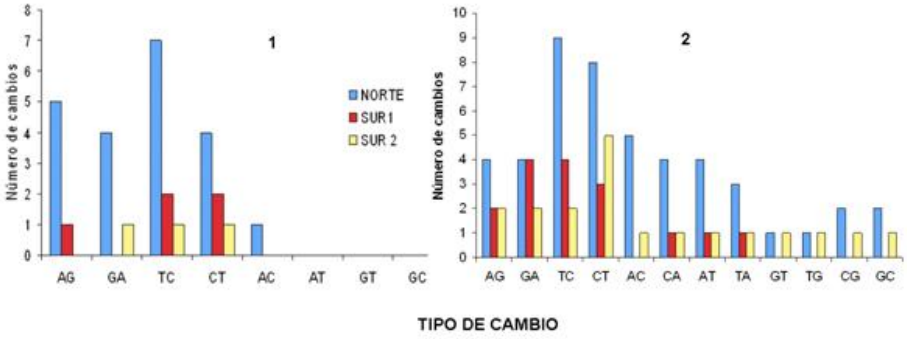

Figura 17. Número de cambios nucleotídicos en las secuencias de citocromo b (1) y la Región Control (2) de los individuos *Pecari tajacu* entre las regiones diferenciadas Norte, Sur 1 y Sur 2.

Finalmente, se aplicó la prueba no paramétrica de Friedman con el paquete estadístico Statistix 9, en la que no se encontraron diferencias significativas en el número de cambios tipo transición o transversión entre las regiones Norte, Sur 1 y Sur 2, pero si se observaron diferencias en el número de cambios transicionales teniendo en cuenta la posición en el codón, estadístico de Friedman: 6,00, p:0,04, gl:2.

Con la información obtenida de los análisis filogenéticos de Máxima Parsimonia e Inferencia Bayesiana, así como las distancias pareadas entre y dentro de los clados intraespecíficos y la composición nucleotídica-aminoacídica del marcador Citocromo B, permitió reconocer la existencia de dos clados mayores Norte y Sur, antes reportados por Góngora *et al.,* 2006, y dos subclados Sur 1 y Sur 2 observados en este trabajo, sin embargo esta subdivisión no es evidente en el análisis de las secuencias proteicas de Citocromo B, resultado esperado dada a la alta conservación de la secuencia de la proteína entre muestras debido a restricciones funcionales, en donde la mayoría de cambios en las secuencias nucleotídicas correspondieron a sustituciones sinónimas, con excepción de ocho

sustituciones que representaron cambios de aminoácido y de grupo funcional (Figura 16).

6.3 Análisis poblacional

Para esta aproximación se utilizaron solo las secuencias obtenidas en este estudio, 57 de Citocromo B (17 haplotipos) y 59 de la Región Control (16 haplotipos) (Tabla 9 y 10).

Tabla 9. Lista de haplotipos obtenidos de Citocromo B. Las columnas N, y Clado indican el número de individuos para cada haplotipo y el grupo filogenético intraspecífico respectivamente.

Hap	27	28	42	48	57	72	73	78	81	82	99	102	105	111	123	129	135	159	180	198	217	234	243	252	255	261	291	303	315	318
Hap_1	A	C	C	C	C	G	C	C	T	T	C	A	C	A	G	A	C	A	C	G	G	C	C	T	C	A	C	A	G	C
Hap_2	.	.	.	.		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap_3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap_4	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap_5	.	.	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.
Hap_6	.	.	T	.	.	A	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	.	A	.	.	.	G	.	.
Hap_7	G	T	T	.	.	A	.	T	C	.	A	.	T	.	A	.	.	G	T	A	.	.	T	A	.	G	.	.	A	T
Hap_8	.	.	T	.	T	A	T	.	.	.	.	G	T	.	A	.	T	G	.	A	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.
Hap_9	.	.	T	.	T	A	T	.	.	.	.	G	T	.	A	.	T	G	.	A	.	T	.	A	T	.	.	.	.	.
Hap_10	.	.	T	.	T	A	T	.	.	C	A	G	T	.	A	.	T	G	.	A	.	T	.	A	T	.	.	.	.	.
Hap_11	.	.	T	.	T	A	T	.	.	C	.	G	T	.	A	.	T	G	.	A	.	T	.	A	T	.	.	.	A	.
Hap_12	.	.	T	.	T	A	T	.	.	C	.	G	T	.	A	.	T	G	.	A	.	T	.	A	T	.	.	.	A	.
Hap_13	.	.	T	.	T	A	T	.	.	C	.	G	T	.	A	.	T	G	.	A	.	T	.	A	T	.	.	.	.	.
Hap_14	.	.	T	.	.	A	T	.	.	.	.	G	.	G	A	G	T	.	.	A	.	T	.	A	.	.	T	.	.	.
Hap_15	.	.	T	.	.	A	T	.	.	.	.	G	.	G	A	G	T	.	.	A	A	T	.	A	.	.	T	.	.	.
Hap_16	.	.	T	.	A	A	T	.	.	.	.	G	.	G	A	G	T	.	.	A	.	T	.	A	.	.	T	.	.	.
Hap_17	.	.	T	.	.	A	T	.	.	.	.	G	.	G	A	G	T	.	.	A	.	T	.	A	.	.	T	.	.	.

Hap	327	342	345	349	351	361	387	390	393	405	408	417	420	426	435	438	444	465	477	480	483	486	492	498	516	519	528	567	568	570
Hap_1	T	T	C	G	C	C	A	A	T	G	A	T	C	G	C	T	C	T	T	A	A	G	T	G	A	T	A	T	A	C
Hap_2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap_3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap_4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap_5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.
Hap_6	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	.	.	.	T	.	.	C	C	G	.	A	.	A	.	.	.	.	.	.
Hap_7	.	.	.	.	.	.	G	G	.	A	.	C	.	A	T	.	.	.	C	G	.	A	.	.	G	C	.	C	.	.
Hap_8	.	C	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	T	A	T	.	T	C	C	.	.	A	C	.	.	.	.	C	.	.
Hap_9	C	C	.	A	T	.	.	.	.	A	.	.	T	A	T	.	T	C	C	.	G	A	C	.	.	.	.	C	.	T
Hap_10	.	C	T	A	T	.	.	.	.	A	.	.	T	A	T	.	T	C	C	.	.	A	C	.	.	.	.	C	.	.
Hap_11	.	C	T	.	T	.	.	.	.	A	.	.	T	A	T	.	T	C	C	.	.	A	C	.	.	.	.	C	.	.
Hap_12	.	C	T	.	T	.	.	.	.	A	.	.	T	A	T	.	T	C	C	.	.	A	C	.	.	.	.	C	.	.
Hap_13	.	C	T	A	T	.	.	.	.	A	.	.	T	A	T	.	T	C	C	.	.	A	C	.	.	.	.	C	.	.
Hap_14	.	C	.	.	T	.	G	.	C	.	.	C	.	A	T	.	T	C	C	.	.	A	C	.	.	.	G	C	G	.
Hap_15	.	C	.	.	T	.	G	.	C	.	.	C	.	A	T	.	T	C	C	.	.	A	C	.	.	.	G	C	G	.
Hap_16	.	C	.	.	T	.	G	.	C	.	.	C	.	A	T	.	T	C	C	.	.	A	C	.	.	.	G	C	G	.
Hap_17	.	C	.	.	T	.	G	.	C	.	.	C	.	A	T	.	T	C	C	.	.	A	C	.	.	.	G	C	G	.

Hap	574	589	591	600	612	630	645	660	666	672	690	693	699	705	713	715	718	721	728	729	730	747	748	753	758	N	Clado
Hap_1	C	T	G	T	A	A	A	C	G	T	A	A	A	G	T	C	C	T	T	A	C	C	C	A	C	3	N
Hap_2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	N
Hap_3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	N
Hap_4	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1	N
Hap_5	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	2	N
Hap_6	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	1	N
Hap_7	.	.	A	.	.	.	.	.	A	C	.	.	G	A	.	T	.	.	C	.	T	.	.	.	.	1	N
Hap_8	T	.	A	C	.	.	.	T	A	.	.	.	.	A	C	T	.	C	.	C	.	.	T	G	.	9	S1
Hap_9	T	C	A	C	.	.	.	T	A	.	.	.	.	A	C	T	.	C	.	C	.	.	T	G	.	2	S1
Hap_10	T	.	A	C	.	.	.	T	A	.	.	.	.	A	C	T	.	C	.	C	.	.	T	G	.	1	S1
Hap_11	T	.	A	C	.	.	.	T	A	.	.	.	.	A	C	T	.	C	.	C	.	.	T	G	.	4	S1
Hap_12	T	.	A	C	.	.	.	T	A	.	.	.	.	A	C	T	.	C	.	C	.	.	T	G	G	1	S1
Hap_13	T	.	A	C	.	.	.	T	A	.	.	.	.	A	C	T	.	C	.	C	.	.	T	G	.	2	S1
Hap_14	T	.	A	C	G	G	G	T	A	.	G	G	.	A	C	.	T	C	.	C	.	.	T	.	.	19	S2
Hap_15	T	.	A	C	G	G	G	T	A	.	G	G	.	A	C	.	T	C	.	C	.	.	T	.	.	7	S2
Hap_16	T	.	A	C	G	G	G	T	A	.	G	G	.	A	C	.	T	C	.	C	.	.	T	.	.	1	S2
Hap_17	T	.	A	C	G	G	G	T	A	.	G	G	.	A	C	T	.	C	.	C	.	.	T	G	.	1	S2

Tabla 10. Lista de haplotipos obtenidos de la Región Control. Las columnas N, y Clado indican el número de individuos para cada haplotipo y el grupo filogenético intraspecífico respectivamente.

Hap	42	43	57	69	78	79	80	88	102	110	112	115	130	145	148	153	163	166	167	174	175	177	182	183	187	195	196	203	206	212
Hap_1	G	T	A	G	T	C	A	T	A	G	C	T	C	G	G	T	C	C	T	T	C	A	A	T	A	A	C	T	G	T
Hap_2	A	.	T	A	C	.	C	A	G	.	.	C	.	A	A	.	.	T	.	.	T	G	C	C	.	G	T	.	A	.
Hap_3	.	.	T	A	.	.	.	A	G	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.	C	T	G	C	C	.	G	T	.	A	C
Hap_4	.	C	.	A	.	T	.	.	.	A	T	.	.	.	A	.	.	.	C	.	T	.	.	.	.	G	T	.	A	C
Hap_5	A	.	T	A	C	.	C	A	G	.	.	C	.	.	A	.	.	T	.	.	T	G	C	C	.	G	T	.	A	.
Hap_6	A	.	T	A	C	.	C	A	G	.	.	C	.	.	A	.	.	T	.	.	T	G	C	C	.	G	T	.	A	.
Hap_7	A	.	T	A	C	.	C	A	G	.	.	C	.	A	A	.	.	T	.	.	T	G	C	C	.	G	T	.	A	.
Hap_8	.	C	.	A	.	T	.	.	.	A	T	.	.	.	A	.	.	.	C	.	T	.	.	.	G	G	T	.	A	C
Hap_9	.	C	.	A	.	T	.	.	.	A	T	.	.	.	A	.	T	.	C	.	T	.	.	.	.	G	T	C	A	.
Hap_10	.	C	.	A	.	T	G	.	.	A	T	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	A	.
Hap_11	.	.	T	A	.	.	.	A	G	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.	C	T	G	C	C	.	G	T	.	A	C
Hap_12	.	.	T	A	.	.	.	A	G	.	.	C	.	.	.	A	T	.	.	C	T	G	C	C	.	G	T	.	A	C
Hap_13	.	.	T	A	.	.	.	A	G	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.	C	T	.	C	C	.	G	T	.	A	C
Hap_14	.	.	T	A	.	.	.	A	G	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.	C	T	G	C	C	.	G	T	.	A	C
Hap_15	.	.	T	A	.	.	.	A	G	.	.	C	T	.	.	.	T	.	.	C	T	G	C	C	.	G	T	.	A	C
Hap_16	.	.	T	A	.	.	.	A	G	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.	C	T	G	C	C	.	G	T	.	A	C

Hap	213	214	222	227	228	239	240	253	285	289	316	319	331	332	337	352	355	371	392	393	424	N	Clado
Hap_1	T	C	C	C	C	C	A	T	T	T	G	C	C	A	A	T	T	C	A	T	T	1	**N**
Hap_2	.	T	T	T	T	.	.	.	.	.	A	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	23	**S2**
Hap_3	.	.	T	T	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	7	**S1**
Hap_4	C	T	.	.	.	T	.	.	A	C	.	.	.	G	G	.	.	.	.	C	C	5	**N**
Hap_5	.	T	T	T	T	.	.	.	.	.	A	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	2	**S2**
Hap_6	.	T	T	T	T	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	3	**S2**
Hap_7	.	T	T	T	T	.	G	.	.	.	A	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	1	**S2**
Hap_8	C	T	.	.	.	T	.	.	A	C	.	.	.	G	G	.	.	T	.	C	.	1	**N**
Hap_9	C	T	T	.	.	T	.	.	A	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	1	**N**
Hap_10	.	T	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	C	.	.	G	.	.	1	**N**
Hap_11	.	.	T	T	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	5	**S1**
Hap_12	.	.	T	T	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	1	**S1**
Hap_13	.	.	.	T	.	T	.	.	.	C	.	.	T	.	G	.	.	.	G	.	C	3	**S1**
Hap_14	.	.	T	T	.	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	3	**S1**
Hap_15	.	.	T	T	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	1	**S1**
Hap_16	.	.	T	T	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	2	**S1**

6.3.1 Diversidad genética

La diversidad haplotípica *Hd* y nucleotídica π fue 0,850 $\pm$ 0,035 y 0,02812$\pm$ 0,00271 en Citocromo b y 0.828 $\pm$ 0.041 y 0.0288 $\pm$0.00252 en la Región Control. En la Tabla 11, se encuentran algunos parámetros de diversidad genética, en la cual se observa que el departamento de Antioquia del cual se obtuvieron seis secuencias de Citocromo B, presentó los valores más altos en sitios segregantes, diversidad nucleotídica y haplotípica.

6.3.2 Estructura poblacional

En este trabajo se asume como población a los individuos que pertenecen a una misma localidad de muestreo. Los análisis de varianza molecular de los dos marcadores (AMOVAs) utilizaron dos formas jerárquicas, en la primera se realizó la comparación entre tres Regiones Biogeográficas a las que por origen geográfico las diferentes secuencias pertenecieron (Instituto Alexander von Humbold, 2004) y en la segunda se separaron las regiones y se realizó el análisis de manera independiente. Las regiones en las que se agruparon las muestras corresponden a la Región Andina o Andes (secuencias de Antioquia y Bolívar), la Región Caribe (secuencias del Cesar) y la Región Orinoquía (secuencias de los departamentos de Arauca, Casanare, Meta y Boyacá).

Adicionalmente se compararon los resultados con y sin las secuencias que presentaron altos porcentajes de divergencia como fueron CAB_ANT, 108_CAS y 545_ANT en la Región Control y 545_ANT y 106_ANT en Citocromo B, valores que se encontraron fuera del rango de divergencia dentro de la especie.

Tabla 11. Diversidad genética. No.Loc: número de localidades muestreadas, No.S: número de secuencias obtenidas, No.H: número de haplotipos, π: diversidad nucleotídica, S: sitios segregantes, Hd: diversidad haplotípica. Las muestras del departamento de Bolívar no fueron amplificadas ni secuenciadas con éxito para la Región Control.

		CITOCROMO B					REGIÓN CONTROL				
DEPARTAMENTO	No.Loc.	No.S	No.H	π	S	Hd	No.S	No.H	π	S	Hd
ANTIOQUIA	2	6	4	0,020	43	0,80	7	4	0,019	26	0,71
CESAR	5	18	6	0,008	42	0,71	20	7	0,010	31	0,81
ARAUCA	7	13	3	0,010	27	0,41	14	3	0,016	23	0,47
CASANARE	2	12	4	0,010	44	0,63	13	2	0,009	29	0,53
BOLÍVAR	2	2	2	0,008	6	1					
META	1	5	1	0	0	0	5	2	0,001	1	0,60

6.3.2.1 Análisis de Varianza Molecular entre Regiones

Los resultados obtenidos evidencian la estructuración geográfica de la diversidad genética, donde el mayor porcentaje de la variación genética, 75,12% y 70% en Citocromo B y Región Control respectivamente, se explica al agrupar las secuencias según su ubicación geográfica en Regiones Biogeográficas.

En los dos marcadores se encontraron valores significativamente altos del estadístico FIS, lo que indicó poca variabilidad dentro de las poblaciones (Tabla 12). La relación entre los estadísticos FST y FIS, indicó la presencia de estructuración regional de la diversidad genética de las poblaciones de *Pecari tajacu*.

Tabla 12. AMOVA entre regiones 1 (Andes), 2 (Caribe) y 3 (Orinoquía) para Citocromo b y Región control.

	Niveles	Citocromo B	Región Control
FST	Entre las poblaciones agrupadas en regiones	0,751 (valor p : 0,009)	0,698(valor p : 0,067)
FIT	Dentro de regiones , entre poblaciones	-0,002(valor p : 0,131)	0,022 (valor p : 0,258)
FIS	Dentro de las poblaciones	0,750 (valor p : 0,000)	0,706(valor p 0,000)

Tabla 13. AMOVA entre regiones 1 (Andes), 2 (Caribe) y 3 (Orinoquía) para Citocromo b y Región control sin las secuencias 545_ANT, CAB_ANT, 106_ANT y 108_CAS que correspondieron a *outliers*.

	Niveles	Citocromo B	Región control
FST	Entre las poblaciones agrupadas en regiones	0,779 (valor p: 0,009)	0,69 1 (valor p: 0,067)
FIT	Dentro de regiones, entre poblaciones	0,042 (valor p: 0,10 1)	0,017 (valor p: 0,272)
FIS	Dentro de poblaciones	0,788 (valor p: 0,00)	0,696 (valor p: 0,00)

Los valores de los estadísticos F no variaron considerablemente cuando se eliminaron de las matrices las secuencias muy divergentes, y los resultados señalaron de igual manera alta estructuración de la diversidad genética de las poblaciones de *Pecari tajacu* entre las regiones (Tabla 13).

6.3.2.2 Diversidad genética y Análisis de Varianza Molecular dentro de las Regiones

6.3.2.2.1 Región Andina

Esta región agrupa los individuos muestreados en Antioquia y Bolívar en Citocromo B y únicamente las secuencias de Antioquia en la Región Control. El índice de fijación FST fue -0,089 y -0,05 para Citocromo b y la Región control

respectivamente, los valores negativos indicaron una alta divergencia entre las poblaciones de Puerto Berrío, Cimitarra y Bolívar. Como se observa en la Tabla 14, los individuos ubicados en Puerto Berrío presentaron los más altos índices de diversidad.

Tabla 14. Diversidad genética de la Región 1, departamentos Antioquia y Bolívar. Información obtenida por medio del programa DNAsp. *zona limítrofe entre Antioquia-Puerto Berrío y Santander. No.S: número de secuencias obtenidas, No.H: número de haplotipos, π: diversidad nucleotídica, S: sitios segregantes, Hd: diversidad haplotípica.

	Citocromo b					Región control				
Poblaciones	No.S	No.H	S	π	Hd	No.S	No.H	S	π	Hd
Puerto Berrío	3	3	38	0,031	1	3	3	25	0,021	1
Cimitarra*	3	2	17	0,014	0,66	3	2	22	0,018	0,66
Bolivar	2	2	7	0,008	1					

6.3.2.2.2 Región Caribe

Esta región está representada por todos los individuos muestreados en el departamento del Cesar. El valor de FST fue alto y significativo para los dos marcadores, 0,921, valor p=0,00 (Citocromo b) y 0,835, valor p=0,00 (Región control), estos valores indicaron estructuración entre las poblaciones de pecarí muestreadas. Adicionalmente esta región presentó baja diversidad al interior de las poblaciones muestreadas (ver Tabla 15).

Tabla 15. Diversidad genética de la Región 2, departamento del Cesar. Información obtenida por medio del programa DNAsp. A. Codazzi: municipio Agustín Codazzi.*zona limítrofe entre los departamentos Cesar y Magdalena. No.S: número de secuencias obtenidas, No.H: número de haplotipos, π: diversidad nucleotídica, S: sitios segregantes, Hd: diversidad haplotípica.

	Citocromo b					Región control				
Poblaciones	No.S	No.H	S	π	Hd	No.S	No.H	S	π	Hd
El Paso	8	4	4	0,001	0,75	8	4	6	0,003	0,75
A.Codazzi	2	1	0	0,000	0,00	3	2	2	0,001	0,66
Ariguani*	7	1	0	0,000	0,00	7	2	1	0,000	0,28

6.3.2.2.3 Región Orinoquía

Esta región como se indicó anteriormente corresponde a los sitios de muestreo de los departamentos Arauca, Casanare, Meta y Boyacá. El Análisis de Varianza Molecular para Citocromo B presentó un FST= -0,026 y para la Región control el valor fue de 0,040. El mayor porcentaje de la variación genética en esta región se explica dentro de las poblaciones (98%) (Tabla 16).

Tabla 16.Diversidad genética de la región S2, Arauca, Casanare y Meta. Información obtenida por medio del programa DNAsp. No.S: número de secuencias obtenidas, No.H: número de haplotipos, π: diversidad nucleotídica, S: sitios segregantes, Hd: diversidad haplotípica.

	Citocromo b					Región control				
Poblaciones	No.S	No.H	S	π	Hd	No.S	No.H	S	π	Hd
Arauca	13	3	27	0,010	0,41	14	3	27	0,013	0,47
Casanare	13	4	44	0,009	0,65	13	3	33	0,007	0,29
Meta	5	1	0	0,000	0,00	5	2	2	0,001	0,60

6.3.2.3 Flujo génico entre y dentro de las regiones

El número de migrantes, Nm (Hudson *et al*., 1992) entre las regiones 1 (Andes), 2 (Caribe) y 3 (Orinoquía), fue bajo 0,18 (Citocromo b) y 0,12 (Región Control). El análisis espacial de la diversidad (Correlograma de Mantel) realizado con los haplotipos obtenidos de cada marcador (Figura 18), indicó un patrón de aislamiento por distancia, donde los individuos ubicados dentro de un rango de 0-275,9 km fueron genéticamente similares (correlación positiva) y aquellos que se hallaron a una distancia superior fueron genéticamente diferentes (correlación

negativa). El flujo génico fue concordante con el patrón de aislamiento, ya que la distancia geográfica entre las regiones superó los 300 km.

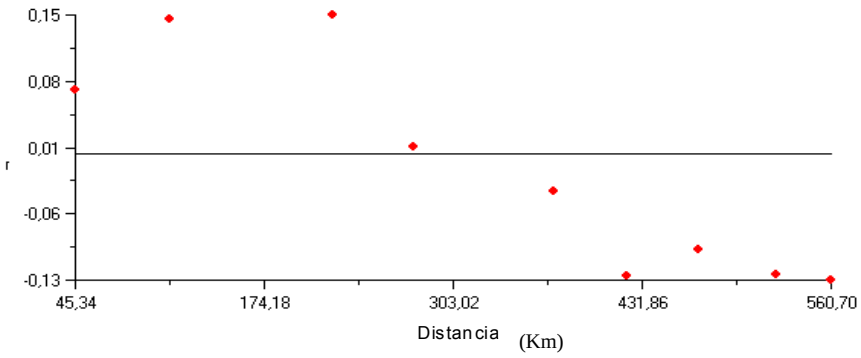

Figura 18. Correlograma de Mantel. Programas utilizados GenALEx 6.1 (Peakall *et al*., 2006) y PASSAGE 1.0 (Rossenberg *et al*., 2001).

Al interior de las regiones se encontraron valores mayores en flujo génico, particularmente en la Región Orinoquía, Nm_{Cit}: 7,62 y Nm_{Rc}: 2,66. Es importante resaltar que esta región presentó las mayores distancias entre las localidades muestreadas del estudio.

6.3.2.4 Pruebas de Neutralidad

En esta parte se realizaron las pruebas Tajima D y Fu & Li (Librado y Rozas, 2009) con el objetivo de probar si todas las mutaciones son selectivamente neutrales (Kimura, 1983) bajo el modelo de Sitios Infinitos, que asume que el número de sitios nucleotídicos es suficientemente grande para que cada nueva

mutación ocurra en un sitio que no ha mutado antes (Kimura, 1969 en Hedrick, 2005). La prueba Tajima D realiza una comparación del parámetro Theta teniendo en cuenta la diversidad nucleotídica de las secuencias y los sitios segregantes. La prueba Fu y Li se basa en las diferencias entre el número de mutaciones que aparecen solo una vez entre las secuencias y el número total de mutaciones (Librado y Rozas, 2009).

Las tres regiones y los dos marcadores moleculares presentaron valores negativos (Tabla 17), indicando una clara desviación de la neutralidad, que puede sugerir la acción de la selección sobre los marcadores, la casi nula acción de la selección purificadora o la presencia de la huella genética de un evento demográfico como la expansión del rango luego de un cuello de botella, en la que se observan gran cantidad de haplotipos diferentes con baja frecuencia, comportamiento que fue observado en la poblaciones muestreadas de *Pecari tajacu*.

Tabla 17. Valores de las pruebas de neutralidad Tajima D y Fu y Li´s.* estadísticamente significativo.

	Fu y Li´s	*Valor p*	Tajima D	*Valor p*
Citocromo B				
Región 1	-0,9740	>0,10	-0,8949	>0,10
Región 2	-3,1880	<0,02*	-1,9908	<0,05*
Región 3	-1,7953	>0,10	-2,0195	<0,05*
Región Control				
Región 1	-0,8246	>0,10	-0,9587	>0,10
Región 2	-2,9735	<0,02*	-1,6785	>0,05
Región 3	-1,3981	>0,10	-1,5245	>0,10

6.4 Análisis filogeográfico

La filogeografía tiene en cuenta el tiempo y el espacio como ejes que enmarcan las genealogías de particulares genes (Avise, 2000). Este análisis buscó dilucidar los posibles factores genéticos y/o demográficos que modelaron la estructuración

poblacional y los linajes evolutivos observados en la especie *Pecari tajacu.* Para ello se realizaron dos aproximaciones, la primera utiliza redes de haplotipos generados por el método de parsimonia estadística (Templeton, 1998). Este proceso se inicia realizando un agrupamiento jerárquico de los haplotipos en la red conformando clados que posteriormente con la información de la ubicación geográfica permite probar la existencia de asociación no aleatoria de los haplotipos con la ubicación geográfica; en caso de existir asociación se sigue una clave dicotómica que permite diferenciar entre expansión del rango, colonización a grandes distancias y fragmentación poblacional.

La segunda aproximación tiene como marco conceptual la Teoría de la Coalescencia (Kingman, 1982), aproximación matemática que modela las diferentes relaciones genealógicas de los individuos de una población. A partir del modelo genealógico de mayor verosimilitud se estiman parámetros poblaciones como Theta, $\theta = Ne \times \mu$, donde Ne para los marcadores de ADN mitocondrial es el tamaño efectivo de la población de hembras y μ es la tasa mutacional por sitio por locus y por generación, y $\boldsymbol{M} = m / \mu$ que es la razón entre la inmigración y la tasa mutacional. Los cambios a través del tiempo de estos parámetros generan señales de cambios demográficos como cuellos de botella, expansión del rango y aislamiento por distancia (Beerli y Felsenstein, 1999).

6. 4.1 Análisis de Clados Anidados

Para Citocromo B como para la Región Control se obtuvieron tres redes haplotípicas independientes (Figuras 19, 20 y 21). El programa TCS v1.21 conformó redes haplotípicas máximo de doce pasos mutacionanes o conexiones posibles entre los haplotipos (nivel de confianza 95%), valores superiores no fueron conectadas por no representar relaciones parsimoniosas (Clement *et al*., 2000).

Por este método se encuentra que la red de haplotipos 1 (Figura 19) constituida principalmente por las muestras de Antioquia, revela un proceso de expansión del rango, de otro lado la red de haplotipos 2 (Figura 20) presentó un fenómeno de fragmentación alopátrica en el clado conformado por las muestras del municipio El Paso y las del municipio Ariguani, limítrofe entre el Cesar y Magdalena. En la tercera red no se pudo rechazar la hipótesis de no asociación geográfica de los haplotipos y la clave indicó la presencia de posibles procesos combinados como son la colonización a grandes distancias, acoplada con fragmentación y expansión del rango.

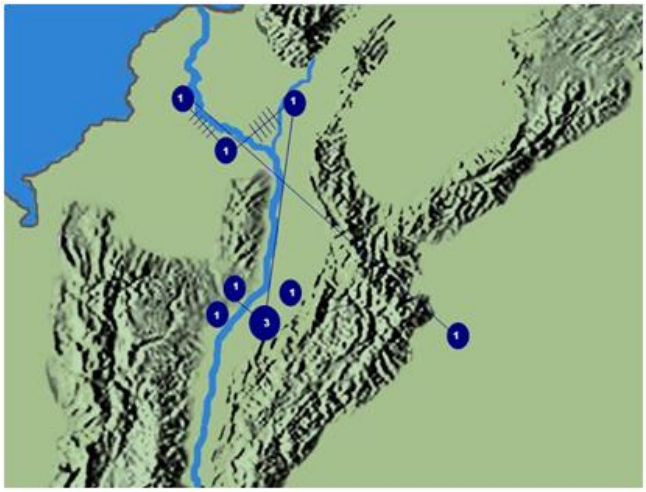

Figura 19. Red de haplotipos 1, generada por TCS v 1.21. En esta red los individuos 545 y 106 no se conectan ya que superan en número de pasos máximo establecido por estadística parsimoniosa.

Figura 20. Red de haplotipos 2, conformada en su mayoría por las muestras del departamento del Cesar.

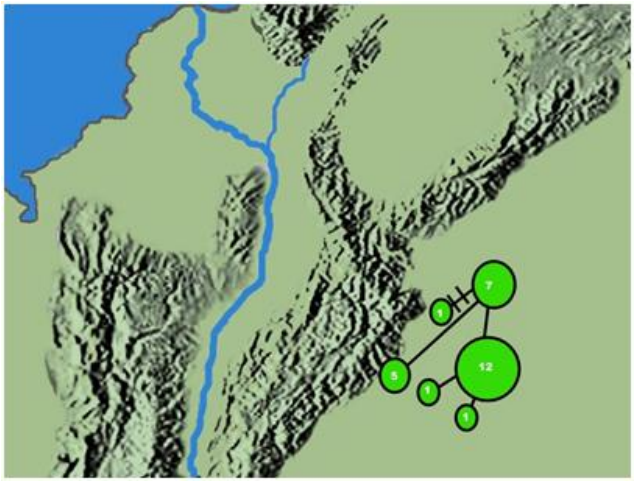

Figura 21. Red de haplotipos 3, conformada por las muestras de los departamentos Arauca, Casanare, Meta y Boyacá.

Los individuos 545_ANT, 106_ANT y CAB_ANT no se conectaron a ninguna red de haplotipos ya que el número de pasos o mutaciones que explican su composición nucleotídica actual supera el máximo establecido en el análisis de parsimonia estadística.

6.4.2 Teoría de la coalescencia

En este estudio se estimaron los parámetros poblacionales Theta θ (Tamaño poblacional por la tasa mutacional) y tasa de migración ***M*** (tasa de inmigración por la tasa mutacional) de la integración de todas las posibles genealogías a partir de las secuencias obtenidas de Citocromo B y la Región Control, utilizando para ello la fórmula de máxima verosimilitud (Figura 22) y la búsqueda de los parámetros más verosímiles utilizó la aproximación de las cadenas de Markov (Markov chain Monte Carlo MCMC) (Kuhner *et al*., 1995).

$$L(P) = \text{Prob}(D|P) = \int_G \text{Prob}(G|P)\,\text{Prob}(D|G)Dg$$

Figura 22. Fórmula de verosimilitud de los parámetros poblacionales a partir de las simulaciones de las genealogías. P: Parámetros poblacionales, **θ, *M***, D: Datos, secuencias, G: Genealogías.

Se realizaron varias simulaciones para contrastar los resultados utilizando los valores del parámetro alfa y el radio de transiciones/transversiones de cada locus reportados en el programa Modeltest. La búsqueda utilizó 10 cadenas cortas de Markov con 1000 pasos registrando cada 100 para un total de 100000 genealogías muestreadas y 2 cadenas largas con 10000 pasos y registrando cada 100 para un total de 1000000 de genealogías visitadas o muestreadas, en cada caso se inició la búsqueda de las genealogías y los parámetros a partir de un árbol

de distancias UPGMA y los valores iniciales de θ y *M* fueron calculados a partir del valor Fst de los datos.

6.4.2.1 Tamaño poblacional

En este análisis se tomaron en cuenta las secuencias comunes a los dos marcadores y se separaron según el departamento al que pertenecían, así el archivo de entrada al programa Migrate contó con la información de los individuos colectados en los departamentos Antioquia, Cesar, Meta, Casanare y Arauca.

La relación del cambio en el tamaño poblacional θ a través del tiempo se pudo observar en los gráficos, *skyline plots*, obtenidos en las simulaciones. En la Figura 23 se encuentran los gráficos en el que el tiempo (tasa mutacional por sitio por generación) se encuentra en el eje X (el presente se indica en el lado izquierdo de la gráfica) y en el eje Y se encuentra el parámetro tamaño poblacional por la tasa mutacional,θ. En todos los casos se observaron señales de cambios demográficos en el pasado de las poblaciones de *Pecari tajacu,* disminución drástica del tamaño poblacional seguido por crecimiento logístico hacia el presente, este comportamiento del parámetro θ puede indicar que las poblaciones de los departamentos muestreados han sufrido cuellos de botella drásticos seguidos por expansión del rango.

6.4.2.2 Eventos migratorios en el tiempo

El otro parámetro poblacional estimado con las simulaciones genealógicas fue ***M***, que es la relación entre la tasa migratoria y la tasa mutacional, en términos generales se obtuvieron valores menores a 1 indicando la mayor participación de la mutación en la diversidad genética de las poblaciones analizadas de pecaríes.

Al evaluar los eventos migratorios entre las diferentes poblaciones se observó que el aporte de las otras poblaciones a través de la migración a la constitución genética de los pecaríes ubicados en Antioquia es mínimo, sin embargo se observaron valores mayores en el pasado (Figura 24). De igual manera en las poblaciones de Arauca la mayor incidencia de la migración es de las poblaciones de Casanare (Figura 25), situación que no es bidireccional ya que el Casanare presenta mayor influencia de Antioquia, Cesar y Meta (Figura 26). Las poblaciones del Cesar presentan una mayor influencia de la migración desde las poblaciones de Antioquia (Figura 27) y finalmente los individuos pertenecientes al departamento del Meta presentaron un mayor impacto migratorio de las poblaciones de Arauca y Casanare (Figura 28).

6.4.2.3 Tiempos de divergencia

Con las secuencias de Citocromo B obtenidas por este estudio y las reportadas en Genbank se calculó los tiempos de divergencia para cada uno de los clados encontrados en los análisis filogenéticos.

Debido a que la evidencia fósil del tiempo de divergencia entre cerdos y pecaríes presenta un amplio rango que va desde unos pocos millones de años hasta 32 millones de años aproximadamente (Kim *et* al., 2002), se realizaron dos calibraciones, la primera utilizó el tiempo fósil de divergencia de 10 millones de años entre las especies de roedores *Mus musculus* y *Rattus novergicus* (Smith y Patton 1999, Adkins *et al.,*2003, Theodor, 2004) y la segunda utilizó además del tiempo de divergencia entre las especies antes mencionadas, el tiempo sugerido por Góngora y Moran, 2005 de 7 millones de años para el primer evento de divergencia entre los grupos *Pecari tajacu* y *Tayassu pecarie-Catagonus wagneri*.

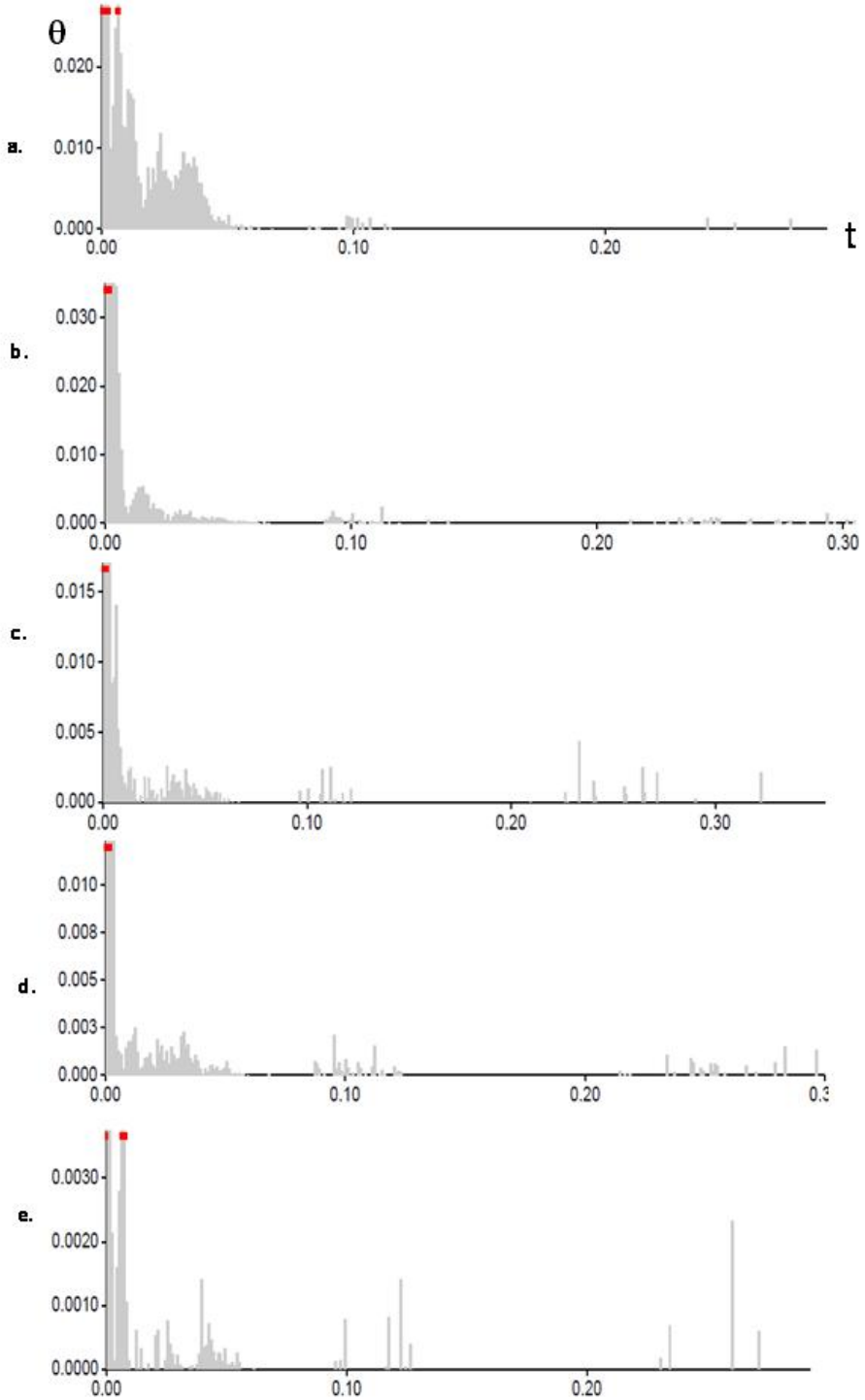

Figura 23. Skyline plots, tiempo y tamaño poblacional, la abscisa es el tiempo en tasa mutacional por sitio por generación y la ordenada corresponde al parámetro θ: Ne.μ. a.Antioquia b.Cesar c.Meta d.Casanare, e. Arauca.

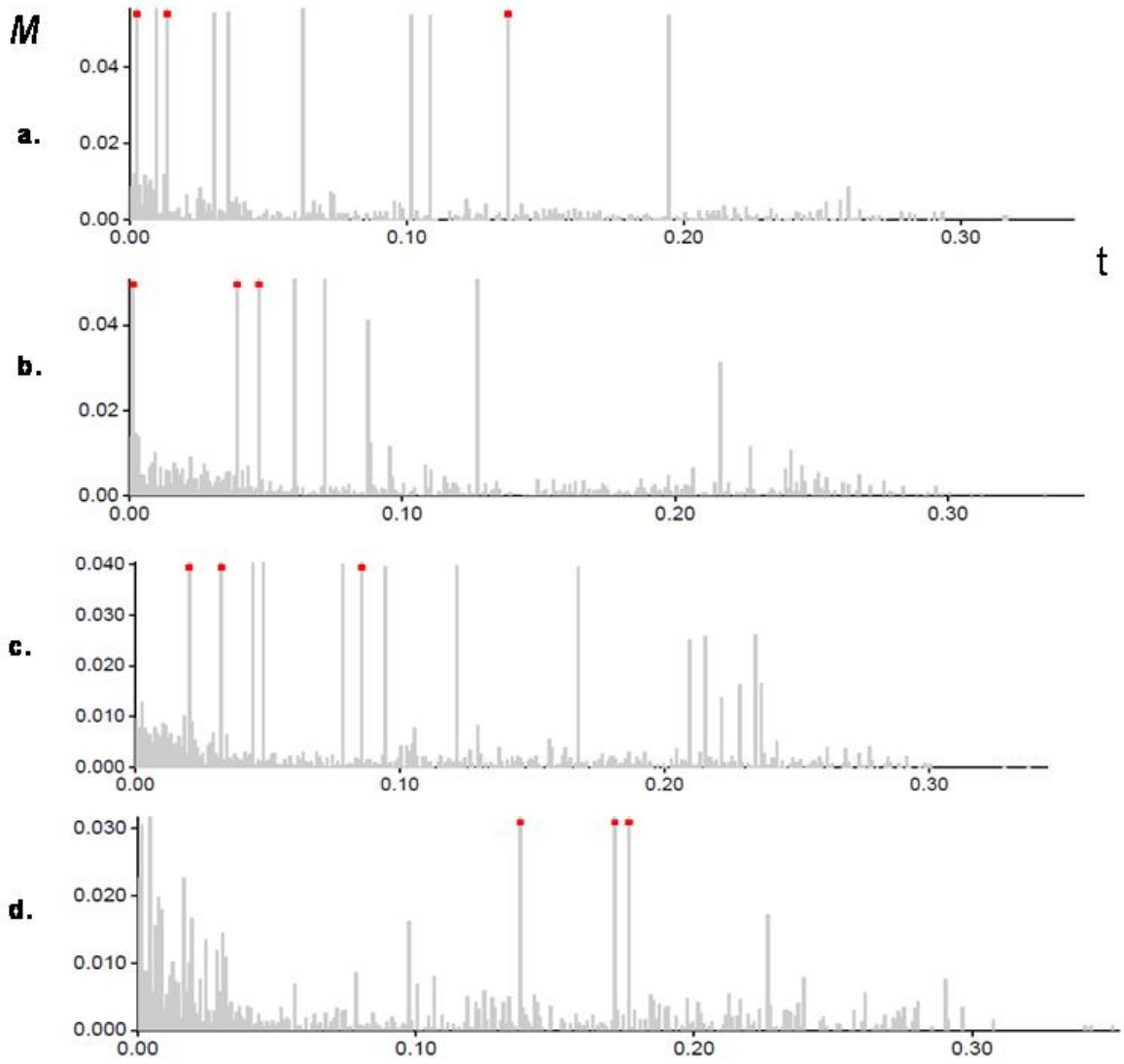

Figura 24. Eventos migratorios a través del tiempo hacia Antioquia desde a. Arauca b. Casanare c.Cesar d.Meta. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación.

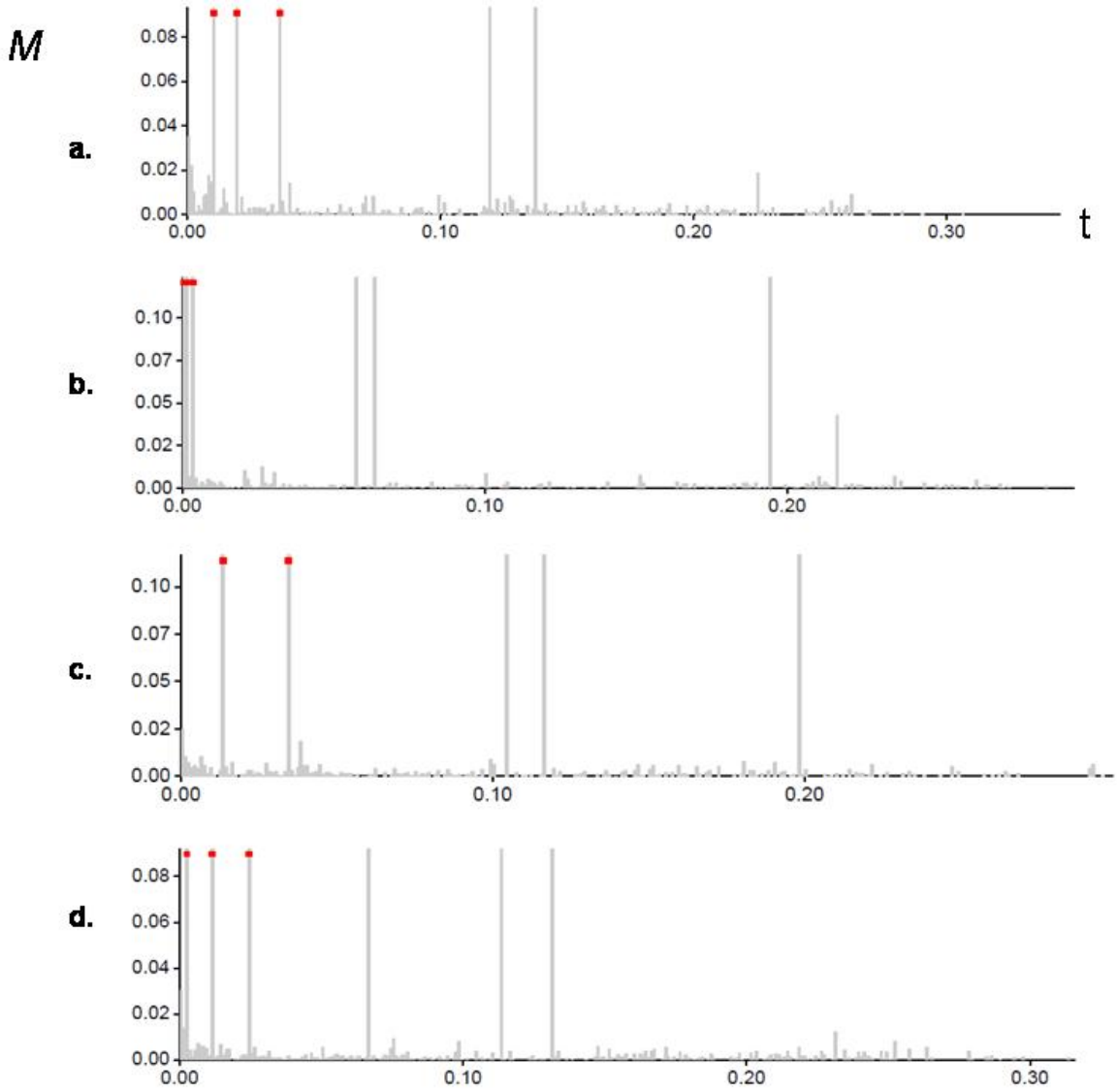

Figura 25. Eventos migratorios a través del tiempo hacia Arauca desde a. Antioquia b. Casanare c.Cesar d.Meta. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación.

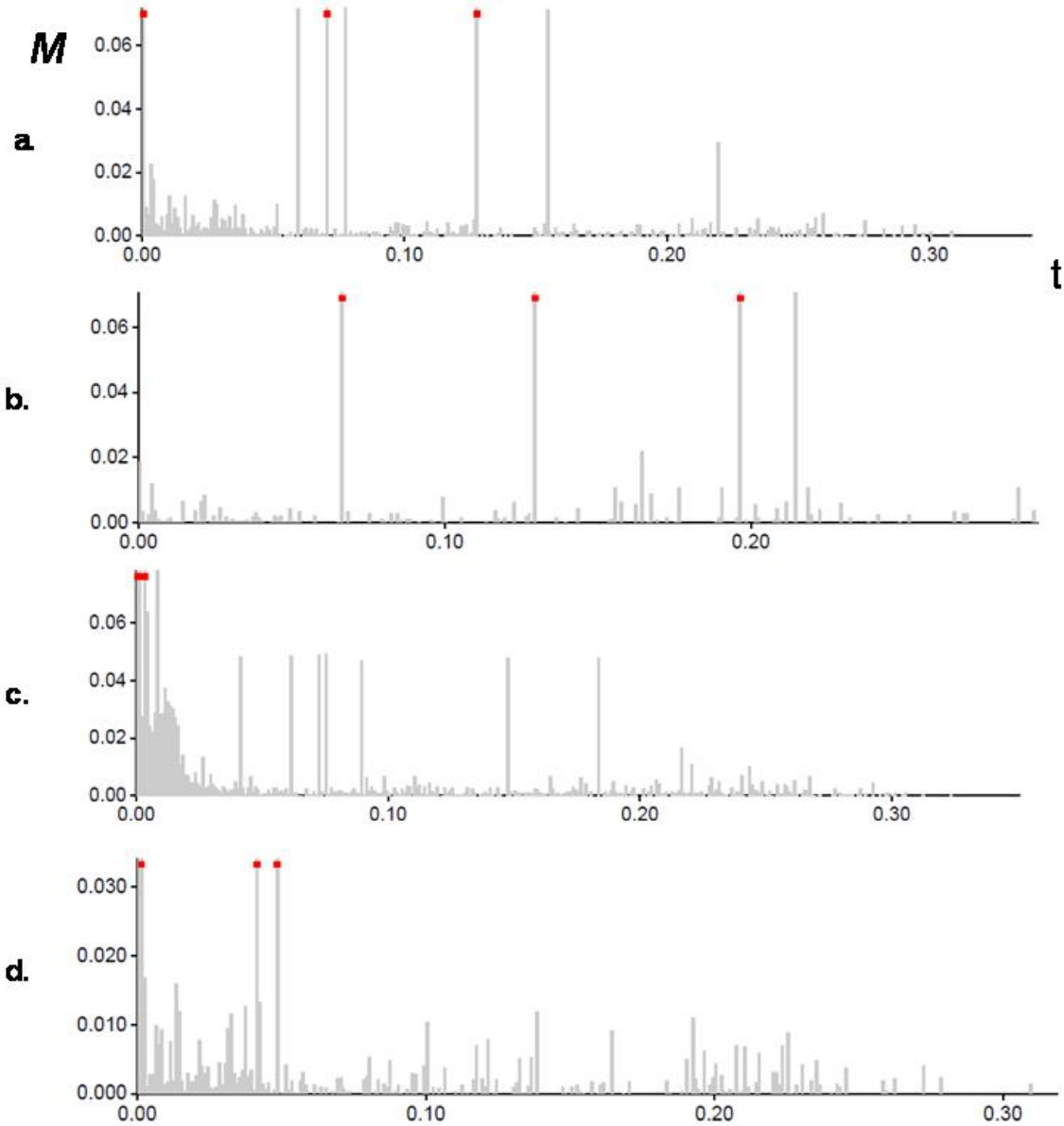

Figura 26. Eventos migratorios a través del tiempo hacia Casanare desde a. Antioquia b. Arauca c.Cesar d.Meta. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación.

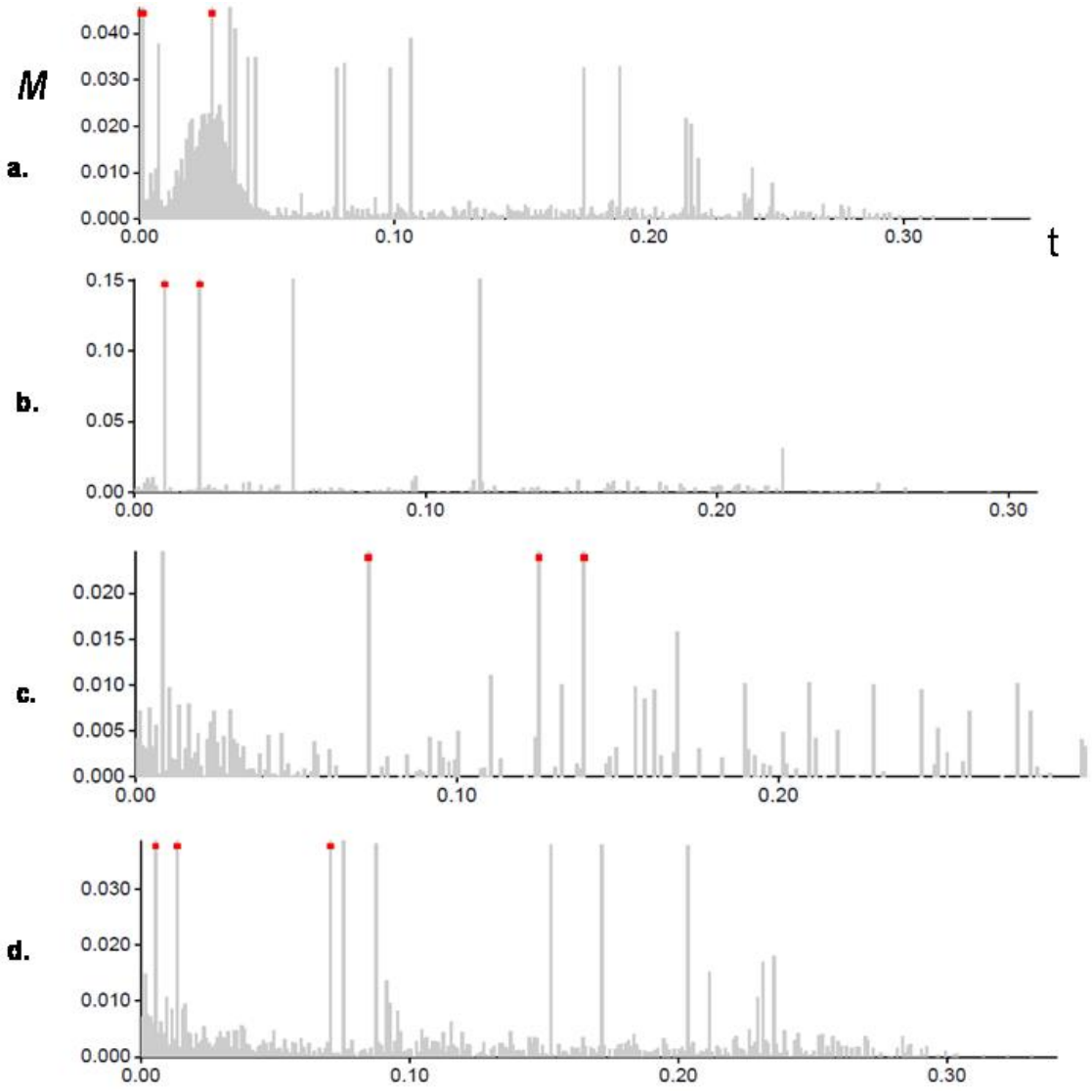

Figura 27. Eventos migratorios a través del tiempo hacia el Cesar desde a. Antioquia b. Arauca c.Casanare d.Meta. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación.

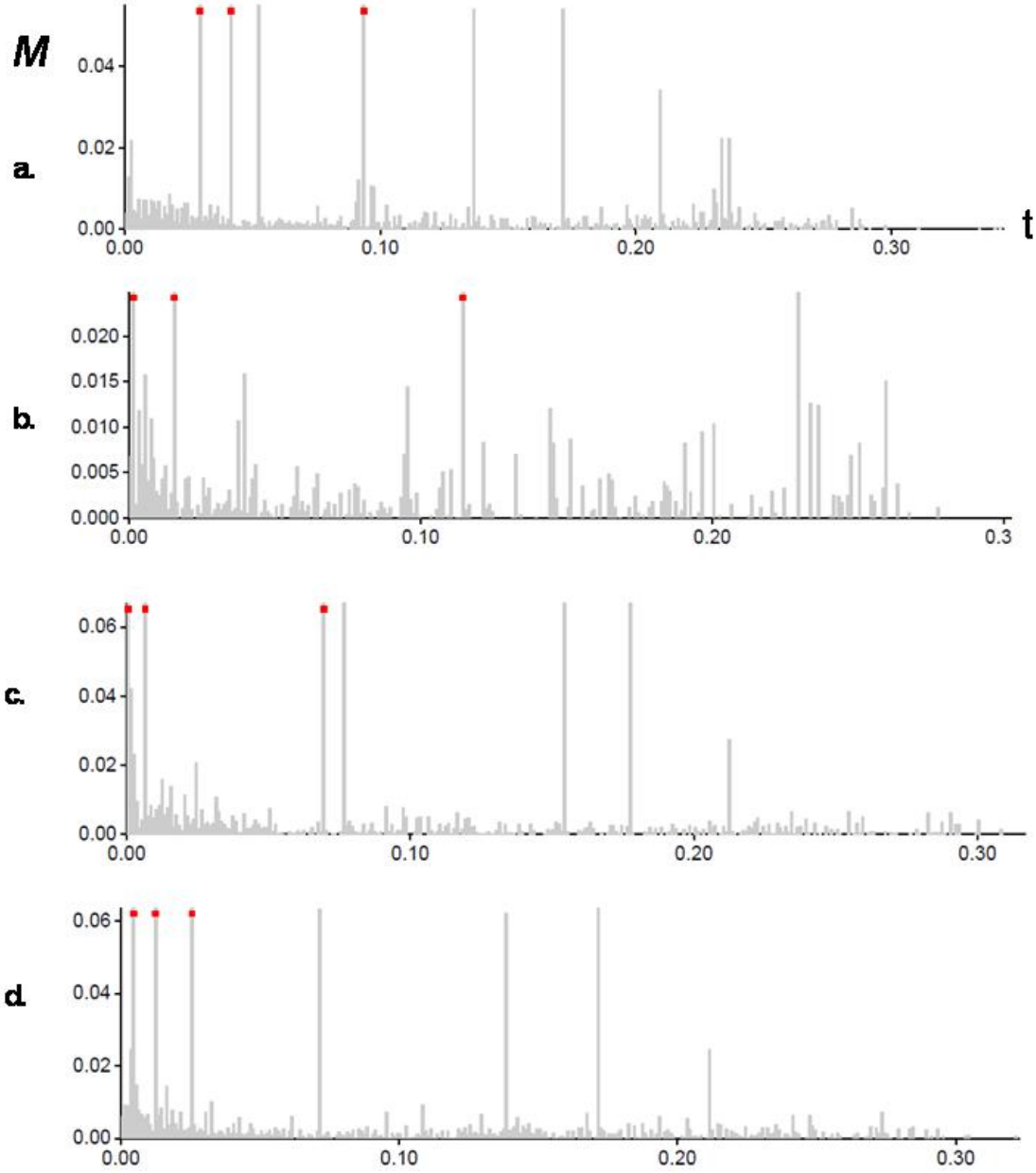

Figura 28. Eventos migratorios a través del tiempo hacia el Meta desde a. Antioquia b. arauca c.Casanare d.Cesar. Eje *y* corresponde al parámetro *M:* m/μ y el eje *x* es el tiempo dado por la tasa mutacional por sitio por generación.

En la figura 29 se encuentran los tiempos obtenidos en millones de años obtenidos por el análisis con los dos puntos de calibración (Tabla 18), es de notar que la separación de los linajes Norte y Sur se registró según la información de las secuencias del marcador Citocromo B hace 3,9275 millones de años (1,8601-5,9936) al final del plioceno, tiempo que se encuentra dentro del rango de datación del establecimiento del puente terrestre que unió América del Norte y América del Sur.

Al interior del Clado Sur la subdivisión entre los subclados denominados Sur 1 y Sur 2 se registró hace 2,0338 MA (0,7608-3,5405), en el Clado Norte se encontró que las secuencias 545_ANT y 106_ANT presentaron los mayores tiempos de divergencia.

Tabla 18. Valores promedio de los tiempos de divergencia entre los Clados Norte y Sur.

PUNTO DE CALIBRACIÓN	CLADOS NORTE Y SUR	CLADOS SUR1 Y SUR2
Pecari tajacu y *Tayassu pecarie*-Catagonus wagneri, 7 MA.	3,848	2,545
Pecari tajacu y *Tayassu pecarie-Catagonus wagneri*, 7 MA y *Rattus novergicus* y *Mus musculus*, 10 MA.	3,927	2,033

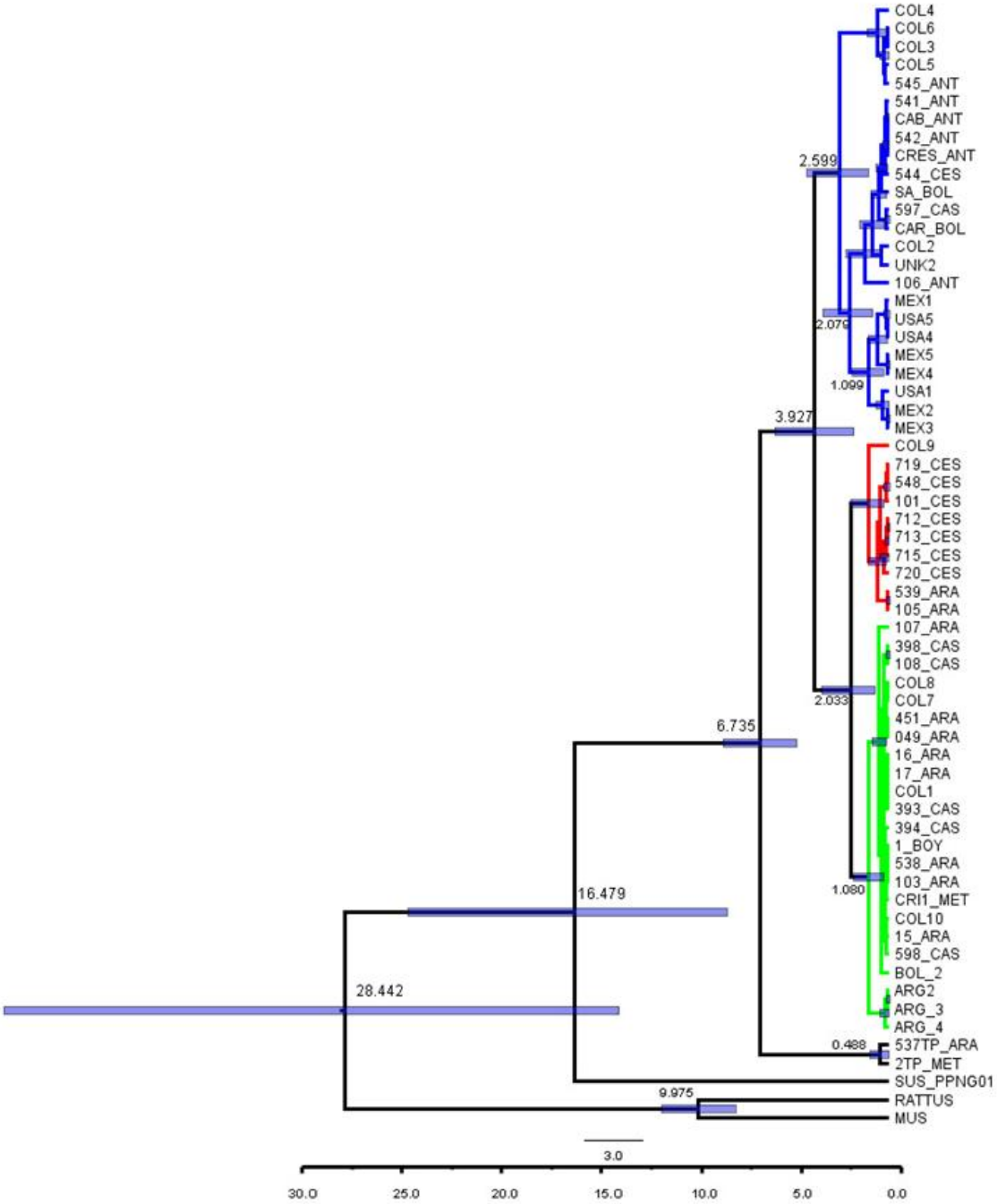

Figura 29. Tiempos de divergencia entre los clados Norte (azul), Sur 1 (Rojo) y Sur 2 (Verde). Los números sobre cada nodo representan el tiempo promedio de divergencia en millones de años, la barra indica el intervalo de confianza al 95%. La línea inferior representa el tiempo en millones de años (MA).

9. DISCUSIÓN

Este trabajo evaluó la diversidad genética de poblaciones de pecaríes en varios Departamentos de Colombia y su posible estructuración geográfica, esto con el fin de entender el efecto de procesos históricos en la actual distribución y diversidad genética de esta especie. Los pecaríes al igual que otros grupos de organismos se presume ingresaron al continente Suramericano como resultado del levantamiento del istmo de Panamá que se inició hace aproximadamente 4-5 MA (Keigwin, 1982 en Hooghiemstra y van der Hammen, 1998) y finaliza a comienzos del Pleistoceno (2 MA). Según los registros geológicos antes de la conexión de las Américas el proceso de levantamiento de la cordillera de los Andes ya había iniciado, lo que hace suponer que los grupos migrantes de pecaríes pudieron ser afectados por el último evento orogénico del levantamiento de los Andes, escenario propuesto para otros grupos de organismos como roedores (Weksler, 2006), mariposas *Heliconius* (Brower, 1996), moscas (Arrivillaga et al, 2002), lagartos (Harvey y Gutberlet, 2000), caimanes (Venegas-Anaya *et al*., 2008) y aves (Brumfield y Caparella, 1996) entre otros. La gran heterogeneidad espacial y temporal de la Cordillera de los Andes llevaron a las poblaciones de distintas especies a evolucionar a distintos hábitats y nichos ecológicos (Reig, 1984).

Los datos mitocondriales sugieren que la historia de la diversificación de la línea matrilineal de la especie *Pecari tajacu* en América del Sur inicia hace aproximadamente 3,9275 MA (1,8601-5,9936) con la conformación de los Clados Norte y Sur, el Clado Norte constituido por las secuencias de origen Norte-Centroamericano y las muestras colombianas del departamento de Antioquia, dos de Bolívar, una del Casanare y una del Cesar, y el Clado Sur con las muestras de Argentina, Bolivia y las muestras colombianas de los departamentos del Cesar, Arauca, Casanare, Boyacá y Meta.

La existencia del Clado Sur evidenciado por datos mitocondriales en este trabajo, había sido sugerida por Góngora *et al*. (2006). Adicionalmente se ha reportado una modificación estructural del cariotipo, donde las poblaciones suramericanas portan una translocación balanceada entre los cromosomas 1 y 8 (Builes *et al*., 2004). En este estudio se encontró al interior del Clado Sur dos grupos bien soportados por los análisis filogenéticos basados en parsimonia e inferencia bayesiana, que se denominaron Sur 1 y Sur 2, que divergieron aproximadamente hace 2,0338 MA (0,7608-3,5405). En el subclado Sur 1 se encontraron secuencias de los pecaríes del departamento del Cesar y dos individuos de Arauca y en el subclado Sur 2 las secuencias de los departamentos de Arauca, Casanare, Boyacá y Meta. Dentro de este último subclado se encontraron las secuencias de origen Argentino y Boliviano, lo que permite plantear una posible ruta migratoria que inicia en los llanos orientales colombianos hacia el sur de Suramérica.

El Clado Norte es la agrupación más heterogénea, en la que las muestras de origen colombiano específicamente las secuencias de Antioquia 545, 106 y CAB presentaron los valores más altos de divergencia para los dos marcadores mitocondriales analizados. Aunque el objetivo de este estudio no consideró incluir información fenotípica, fue evidente en campo que los pecaríes de Antioquia presentaban un mayor tamaño corporal al igual que un color del pelaje totalmente diferente a lo observado en los grupos que se encontraron en el Cesar, Arauca, Casanare y Meta (Figura 30). La diferenciación en el tamaño corporal y el pelaje entre los pecaríes que habitan en zonas boscosas y los que se encuentran en zonas más desérticas fue anteriormente reportada por Kiltie en 1985.

El análisis genético-poblacional se realizó únicamente con las muestras de origen colombiano puesto que se conocía con certeza el origen geográfico de las muestras. Para este análisis se organizaron las localidades de muestreo según las Regiones Biogeográficas a las que pertenecían (Andes, Caribe y Orinoquía). El Análisis de Varianza Molecular detectó alta estructuración geográfica de la

diversidad FST 0,70-0,77 para Citocromo B y la Región Control respectivamente, resultados que fueron congruentes con los linajes evolutivos intraespecíficos detectados y soportados en los análisis filogenéticos de Máxima Parsimonia e Inferencia Bayesiana. Al detallar la composición genética de cada una de las regiones, la Región Andina, en la que se encuentran las muestras de Antioquia presentó la mayor diversidad genética seguida de la Región Caribe con las muestras del departamento del Cesar. De otro lado, la Región Orinoquía del cual se obtuvo el mayor número de muestras de las localidades de los departamentos

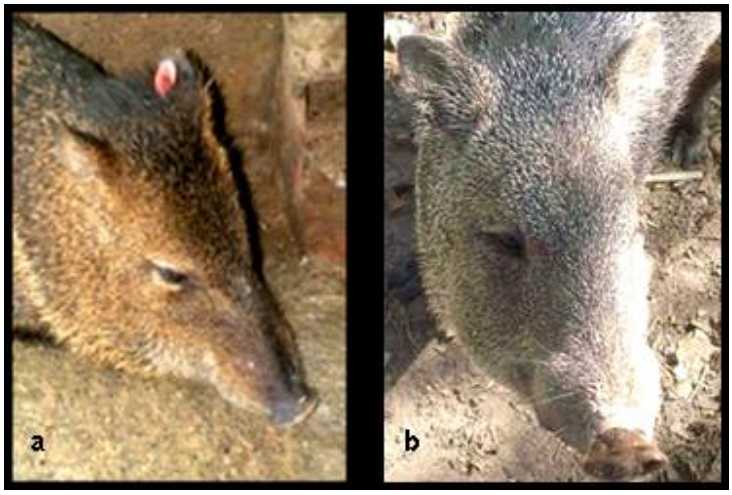

Figura 30. Diferencias en el color del pelaje. a. pecarí de Antioquia, b. pecarí de Cesar. Imágenes tomadas por Sandra Sabogal.

de Arauca, Casanare, Meta y Boyacá, y que contó con las mayores distancias entre las localidades muestreadas de todo el estudio, presentó los valores más bajos de diversidad para los dos marcadores.

La diversificación al interior de la especie *Pecari tajacu* también fue observada en el gran número de haplotipos con relación al número total de secuencias analizadas, 17 de Citocromo B y 16 de la Región Control. Es así que la mayoría de haplotipos tienen una frecuencia entre 0,01 y 0,08, siendo la excepción a la regla el haplotipo 14 de Citocromo b con una frecuencia de 0,33 y el haplotipo 2 de la Región Control con 0,38, ambos haplotipos se ubicaron en el subclado Sur 2 correspondiente a la Región Orinoquía.

La estructuración genética de las poblaciones de pecaríes en los departamentos muestreados de Colombia puede ser explicada en parte por la reducción del número de migrantes (0,18 para Citocromo b y 0,12 en Región Control) entre las regiones, que de otra forma conectaría genéticamente las historias evolutivas de las poblaciones y disminuiría la divergencia entre ellas. Adicionalmente, las muestras obtenidas en este estudio presentaron un patrón de aislamiento por distancia, en donde la asociación genética de los individuos disminuye a distancias superiores a 275,9 km.

Al interior de la regiones, específicamente en la Región Orinoquía se presentaron los valores más altos en número de migrantes (Nm_{cit}: 7,62 y Nm_{rc}: 2,66) lo que explica los bajos índices de estructuración entre las poblaciones de Arauca, Casanare, Meta y Boyacá.

El aislamiento genético de las poblaciones de pecaríes en el nivel regional se enmarca en un paisaje caracterizado por la presencia de las cordilleras Occidental, Central y Oriental y el río Magdalena, que sin duda conformaron en el pasado como en el presente las principales barreras naturales a la migración de las hordas de pecaríes de origen Norte-Centroamericano hacia las llanuras del Sur-Oriente Colombiano. Sin embargo la existencia de individuos en la Región Orinoquía (597_CAS, 539_ARA y 105_ARA) con haplotipos que se agrupan a los Clados Norte y Sur 1, que corresponden geográficamente a las regiones Andes y

Caribe, sustenta la existencia en el pasado de rutas migratorias entre las regiones, ya que la altura sobre el nivel del mar que tienen hoy las cordilleras se adquirió en tiempos muy recientes, hace 250.000 años (Hooghiemstra y Van der Hammen, 1998), haciendo posible antes de este último evento orogénico, el paso de diferentes grupos desde los hábitats andinos y caribeños hacia los llanos orientales colombianos.

Este escenario de alta heterogeneidad espacial y el bajo impacto de la migración entre las regiones a través del tiempo, brindaron las condiciones necesarias para que la mutación, la selección natural y la fijación aleatoria de algunos cambios, (Hedrick 2005), conformará los tres linajes evolutivos altamente diferenciados de la especie *Pecari tajacu.* Los cambios más frecuentes detectados en las secuencias analizadas fueron tipo transición (Timina a Citosina) y estos en su mayoría representaron cambios silenciosos que no implicaron una modificación funcional de los aminoácidos de la molécula Citocromo B. Sin embargo dos cambios de grupo funcional se encontraron al comparar las secuencias de los clados mayores, Norte y Sur.

A partir de las simulaciones de las relaciones genealógicas para los dos marcadores mitocondriales se estimó el parámetro poblacional *M,* que implica la relación entre la tasa migratoria (m) y la tasa mutacional (μ) para las diferentes poblaciones. De las gráficas de eventos migratorios en el tiempo se puede inferir que la razón entre estas dos fuerzas evolutivas no es constante y que la mutación prima sobre la migración entre las poblaciones. Adicionalmente se observa que poblaciones que actualmente se encuentran aisladas, con bajos valores de migración con relación a la mutación, en el pasado presentaron un mayor impacto de la migración en su acervo genético, lo que sugiere la presencia en tiempos históricos de corredores biológicos que facilitaban el contacto entre las diferentes poblaciones.

Los análisis filogeográficos de clados anidados también apoyan la existencia de tres historias evolutivas independientes, sin embargo en la conexión entre ellas no se encontró un nivel de confianza adecuado bajo la estadística parsimoniosa. En la red de haplotipos 1 se encontraron todos los individuos de Antioquia, dos de Bolívar, uno del Cesar y uno de Casanare, en la red 2 se encontraron los individuos de las localidades muestreadas del Cesar y dos individuos de Arauca, y finalmente la red haplotípica 3 conectó únicamente los individuos de la Región Orinoquía. La hipótesis de no asociación aleatoria de la información genética y la distribución geográfica de los haplotipos solo fue rechazada en la red 1 y 2, según la clave utilizada en la red 3 no se puede identificar un único proceso demográfico. Los procesos demográficos que se detectaron a través de esta metodología fueron expansión del rango en la red 1 y fragmentación alopátrica en un clado interno de la red 2.

La alta divergencia anteriormente discutida de las secuencias de Antioquia 545 y 106, explica el por qué no están conectadas a ninguna red haplotípica, lo que puede estar relacionado al tamaño de muestra obtenido y que estas muestras correspondan a haplotipos ancestrales, ya que del total de secuencias analizadas éstas presentaron el mayor tiempo de divergencia.

La señal de expansión del rango es también detectada en las pruebas de neutralidad de Tajima D, Fu & Li y en los *Skyline plots* obtenidos de las simulaciones de las relaciones genealógicas. En esta última aproximación se observa la fluctuación del parámetro Theta (θ:Ne.μ) a través de tiempo para las poblaciones de los departamentos de Antioquia, Cesar, Arauca, Casanare y Meta, con un patrón general de declive en la diversidad genética en el pasado y un aumento exponencial hacia el presente. De nuevo los mayores valores del parámetro de diversidad Theta se encuentran en las secuencias de los dos marcadores mitocondriales de los individuos de Antioquia y Cesar.

Estas señales de cambios dramáticos de la diversidad y la presencia de linajes intraespecíficos se enmarcaron en las más recientes eras geológicas, Pleistoceno y Holoceno. Durante el Pleistoceno la tierra experimentó muchos periodos glaciares e interglaciares que modificaron la ubicación y extensión de los hábitats, las condiciones climáticas y la distribución de la biota en el planeta. Las diferentes especies de animales terrestres durante este periodo experimentaron aislamiento de sus poblaciones, fenómeno que promovió la divergencia y la diversificación de las especies (Brown y Lomolino, 1998).

La incidencia de las condiciones climáticas del Pleistoceno sobre la constitución genética de las especies depende en gran medida de la historia de vida de cada especie. La literatura sobre la ecología y el comportamiento de la especie *Pecari tajacu,* le atribuye alta capacidad adaptativa, ya que puede sobrevivir en ambientes muy diversos (Keuroghlian *et al.,* 2004) y conforman manadas que pueden desplazarse a grandes distancias, estableciendo ámbitos hogareños o *Home range* que varían entre 50 y 2000 hectáreas (Mendes y Chivers, 2007). Adicionalmente, las manadas son altamente territoriales y presentan un sistema reproductivo entre polígamo y promiscuo (Wright, 1993), en el que el intercambio de individuos entre manadas es un evento poco frecuente (Sowls, 1997), comportamiento que aumenta la endogamia e incrementa la estructuración de la diversidad genética.

Las características particulares de la historia de vida de los pecaríes, las barreras geográficas y fluviales presentes en Colombia, y los cambios climáticos en el Pleistoceno que favorecieron la extensión y contracción de los bosques y sabanas, posiblemente generaron los procesos cíclicos de reducción y expansión del rango de la especie que como se mencionó anteriormente se detectaron en la fluctuación del parámetro θ.

Según estudios de polen y evidencia zoológica, las cadenas montañosas representaron en el pasado centros de alta diversidad biológica y endemismo, ya que su geomorfología amortiguó las drásticas fluctuaciones de la temperatura del Pleistoceno, permitiendo la supervivencia de los bosques lluviosos tropicales y el establecimiento de refugios para la flora y la fauna (Haffer 1969 en Hooghiemstra y van der Hammen, 1998). Esta hipótesis biogeográfica concuerda con los valores altos de diversidad genética obtenida en los departamentos de Antioquia y Cesar, puesto que las localidades muestreadas en estas zonas se encontraron próximas a la Cordillera Occidental en Antioquia y la serranía del Perijá en el Cesar, sistemas montañosos que muy posiblemente en el Pleistoceno se constituyeron para la fauna y la flora en islas terrestres. Así, la heterogeneidad espacial, climática y el tiempo conformaron los ejes básicos del escenario evolutivo de la especie *Pecari tajacu*, en la que confluyeron las características biológicas de la especie, los procesos demográficos y las fuerzas evolutivas principalmente la mutación y la deriva génica.

La concordancia entre los resultados de los diferentes análisis poblacionales, filogeográficos y filogenéticos sobre la existencia de tres historias evolutivas de la especie *Pecari tajacu* en Colombia y su distribución en diferentes unidades biogeográficas (Instituto Alexander Von Humboldt, 2004), Clado Norte en la Provincia del Chocó-Magdalena, Clado Sur 1 en el Cinturón Árido Pericabeño y el Clado Sur 2 en la Provincia de la Orinoquía, permite distinguir tres unidades de manejo en las que las estrategias de las entidades ambientales deben enfocar sus esfuerzos en preservar la divergencia adaptativa y los procesos evolutivos subyacentes en la diferenciación de los grupos en el rango de distribución de esta especie (Crandall *et al*., 2000, Moritz ,2002 en Knowles ,2009).

Bodmer y Sowls, 1993, Grubb y Groves, 1993 describieron 14 subespecies de *Pecari tajacu* en América, que según el tamaño corporal y el color del pelaje se clasifican en tres grandes grupos subcontinentales, *Angulatus, Tajacu* y *Patira*,

según esta clasificación el Clado Norte correspondería al grupo subcontinental *Angulatus*, caracterizado por animales de pelaje grisáceo que se distribuyen en el Norte y Centro de América, y el Clado Sur al grupo subcontinental *Tajacu*, animales de pelaje grisáceo más grandes en comparación a *Angulatus*, que se distribuyen desde Panamá hacia Brasil, Bolivia, Paraguay y el norte de Argentina.

Dentro del clado Norte, las muestras de Antioquia se caracterizaron por presentar un pelaje oscuro, negro-rojizo y un mayor tamaño corporal que unido a la alta divergencia que presentaron estas secuencias al interior del clado, puede indicar la presencia en el muestreo de individuos del subgrupo *Patira*, ya que reúnen las características de tamaño y color de pelaje.

Góngora *et al*., 2006 sugiere la presencia de una zona híbrida en Colombia entre los grupos *Angulatus* y *Tajacu* que originan el grupo subcontinental *Patira.* Builes *et al*., 2004 utilizando la técnica de bandeo R-replicativa encontró en los pecaríes del Parque Zoológico de Santa Fé de Antioquia los cariotipos de origen Norte-Centroamericano, Suramericano y el cariotipo híbrido entre estos dos para la translocación balanceada de los cromosomas 1:8. El individuo de cariotipo híbrido fue infértil y su comportamiento sexual no se diferenció de los otros pecaríes del zoológico (López, 2010 comunicación personal).

La existencia de individuos híbridos intra e interespecíficos reportados en cautiverio (Andrea *et al*.,2001, Builes *et al*.,2004), plantea la necesidad de monitorear esta condición dentro de las poblaciones naturales y evaluar el impacto ecológico de la introgresión en grupos altamente diferenciados e históricamente aislados como lo observado en las poblaciones de pecaríes en Colombia. La introgresión constituye una amenaza para la integridad genética de las especies (Rhymer y Simberloff, 1996 en Andrea *et al*., 2001, Frankland *et al*., 2002) y para la conservación de los hábitats cuya vegetación ha sido estructurada por las

manadas de mamíferos americanos como las conformadas por las especies de la familia Tayassuidae.

El conocimiento del estado actual de la diversidad genética de nuestras especies y de los eventos evolutivos que le dieron lugar, permiten a las autoridades ambientales designar o ampliar áreas de protección (Evans *et al.*, 2003 en Eguiarte *et al*., 2007).

En el 2009, el Ministerio de Ambiente de Colombia declaró el Santuario de Fauna y Flora "Humedales del Casanare" como Parque Nacional Natural "Morichales de Paz de Ariporo" (Parques Nacionales Naturales, Fuente internet), lugar que posiblemente se constituirá en refugio de las poblaciones que conforman el Clado Sur 2, ya que este parque se encuentra a menos de 100 km de Tame y Puerto Rondón, localidades que para este estudio presentaron los haplotipos más frecuentes de la Región Orinoquía, que pueden corresponder a haplotipos ancestrales o fundadores (Templeton *et al*.,1995).

Actualmente, se encuentra en estudio la creación de un área protegida en la Serranía del Perijá (Parques Nacionales Naturales, Fuente internet). Si este proceso de declaración se realiza permitirá la conservación del linaje Sur 1, que corresponde a las poblaciones de pecaríes del Departamento del Cesar que se encuentran próximas a la Serranía.

De otro lado, las muestras de Antioquia (Clado Norte), con los individuos de origen posiblemente híbrido se localizaron cerca a la Reserva Natural del Bajo Cauca – Nechí y el distrito de manejo integrado Cañón del Río Alicante, dos áreas caracterizadas por su gran riqueza en fauna y flora e importancia para las comunidades rurales en el presente como en el pasado (Ariza *et al*.,2009, Pino y Forero, 2008).

La existencia de áreas naturales protegidas próximas a las zonas o localidades donde se encontraron los linajes de la especie *Pecari tajacu*, genera optimismo sobre las posibilidades de conservación de esta especie, sin embargo es necesario evaluar el grado de deforestación y la presión de cacería al interior de los Parques y Reservas Naturales, ya que en las diferentes localidades visitadas se observó la ausencia de control por parte de las autoridades ambientales.

Características particulares como la adaptabilidad y la alta capacidad reproductiva de los pecaríes, le hacen una especie promisoria. Un ejemplo de manejo de la especie se encuentra en la amazonía peruana (Fang *et al*.,2008), en donde la unión del conocimiento biológico de la especie y el manejo adecuado de la extracción de individuos por parte de las comunidades rurales, ha permitido la conservación de la especie y su hábitat, y la obtención de ingresos y alimento.

Este modelo de sostenibilidad de la diversidad biológica y la integración de las comunidades rurales, puede ser implementado en Colombia, para esto se requiere del trabajo en equipo de las universidades e institutos de investigación, las autoridades ambientales y las comunidades rurales, en el que se genere un equilibrio entre las necesidades de las poblaciones humanas y los pecaríes.

8. CONCLUSIONES

A partir de los análisis filogenéticos, genético-poblacionales y filogeográficos se logró tener evidencia de la existencia en Colombia de tres linajes evolutivos intraespecíficos de la especie *Pecari tajacu.*

El origen de la diversificación de esta especie se enmarca en la heterogeneidad espacial y climática presentes en el pleistoceno que unido a la gran capacidad adaptativa de la especie le permitió sobrevivir y reproducirse en ambientes con condiciones muy variadas como son los bosques húmedos en Antioquia, los bosques secos del Cesar y las sabanas de los Llanos Orientales.

El aislamiento reciente e histórico de los linajes, la acción de la mutación y la deriva génica y la diferenciación ecológica de los hábitats en los que se distribuyen los linajes, constituyen elementos que plantean la necesidad de establecer cada linaje como unidad de manejo independiente, ya que la conexión deliberada de las poblaciones puede constituir un riesgo para la integridad genética de la especie y el ecosistema.

La presencia en el país de los grupos subcontinentales *Angulatus*, *Tajacu* y *Patira* (Bodmer y Sowls, 1993, Góngora *et al*.,2006), postulan a Colombia como una zona de hibridización natural para la especie *Pecari tajacu.* En este estudio los individuos que hacen parte del subclado **Sur 1**, distribuidos en las localidades del departamento del Cesar y **Sur 2**, con los individuos de los Llanos Orientales, de Argentina y Bolivia conformaron el grupo subcontinental *Tajacu.* De otro lado, el grupo *Angulatus* estaría conformado por los individuos de Norte y Centroamérica según la información de estudios anteriores (Góngora *et al*.,2006). El grupo *Patira*

estaría representado por los individuos del departamento de Antioquia, aunque es posible que correspondan a híbridos interespecíficos entre *Tayassu pecari* y *Pecari tajacu*, cruce que se ha observado en cautiverio. Este fenómeno debe ser monitoreado al interior de las poblaciones naturales ya que es necesario para implementar estrategias de manejo tener certidumbre sobre la identidad taxonómica de las poblaciones.

La diversidad genética entre la regiones es contrastante, siendo las poblaciones localizados en Antioquia y Cesar las más diversas, representada por el mayor valor en sitios segregantes, diversidad nucleotídica y haplotíplica. La Región Orinoquía que para este estudio presentó el mayor tamaño muestral y una mayor distancia entre las localidades analizadas presentó la menor diversidad y un mayor número de migrantes. Esta información puede sugerir para esta región una combinación de factores entre ellos un efecto fundador en la línea matrilineal y un cambio comportamental de las manadas, ya que en ambientes poco boscosos se ha observado que esta especie conforma manadas más grandes y la subdivisión al interior es menor, estrategia que hace menos vulnerable a depredación en ambientes abiertos (Sowls, 1997).

Aunque toda la información obtenida en este estudio corresponde a la herencia matrilineal, el hecho que los pecaríes sean manadas fuertemente constituidas, en donde el ingreso e intercambio de individuos es un evento poco frecuente, permite considerar que la estructuración observada en el acervo genético materno también pueda corresponder a la herencia paterna, sin embargo es necesario generar nuevos estudios etológicos y genéticos en las regiones estudiadas que permitan rechazar o corroborar esta hipótesis y que permitan establecer adecuadas estrategias de manejo de la especie en cada región.

9. RECOMENDACIONES

Aunque en nuestro país los estudios sobre la especie *Pecari tajacu* están incrementando, es necesario generar mayor conocimiento en etología, ecología, genética y en el manejo que sobre esta especie realiza las comunidades rurales colombianas.

Es importante ampliar la información sobre los diferentes hábitats en las que se encuentra esta especie, la disponibilidad de recursos y su efecto en la constitución de las manadas, ya que esta información brinda el soporte a los diferentes análisis genéticos, que en conjunto puede evidenciar la vulnerabilidad de la especie en un ambiente de cambios drásticos y rápidos, en donde priman la reducción del hábitat y la cacería.

Es pertinente para generar acertadas estrategias de manejo ampliar las zonas de muestreo ya que el modelo predictivo de la distribución de la especie *Pecari tajacu* indica la presencia de ésta en los departamentos del Chocó, la Guajira y el Amazonas entre otros, zonas que poseen condiciones ambientales contrastantes a los sitios de muestreo de este estudio y que complementarían la historia de las rutas migratorias de las poblaciones de pecaríes del Norte hacia el Sur de América y su diversificación en Colombia.

La detección de híbridos inter e intraespecíficos y su viabilidad en las poblaciones naturales que se encuentran en Antioquia debe considerarse un tema prioritario, ya que la existencia de estos individuos puede desplazar las poblaciones naturales o reducirlas hasta su extinción. La pérdida de grandes mamíferos genera el desequilibrio ecológico en las comunidades en las que evolucionaron, esto se

puede evidenciar en un primer momento en la disminución o ausencia de la diseminación de las semillas a grandes distancias lo que genera un cambio en estructura de la vegetación y a largo plazo una pérdida en la diversidad genética de las plantas que coevolucionaron bajo este sistema de dispersión.

Finalmente, se deben realizar esfuerzos para evaluar el estado de la diversidad genética del pecarí de labios blancos, *Tayassu pecari,* quien a diferencia del *Pecari tajacu*, presenta menor capacidad adaptativa y se restringe a bosques con poco disturbio. Esta especie genera un mayor impacto en la estructuración de la vegetación en los bosques y selvas americanas ya que ésta presenta mayor número de individuos por manada y constituye una de las principales fuentes de proteína de algunas comunidades rurales e indígenas de Colombia.

10. BIBLIOGRAFIA

Adega F, Chaves R y Guedes-Pinto H. 2007. Chromosomal evolution and phylogenetic analyses in *Tayassu pecari* and *Pecari tajacu* (Tayassuidae) tales from constitutive heterochromatin. Journal of Genetics, vol 86 (1), 19 -26.

Adkins R, Walton A y R Honeycutt. 2003. Higher-level systematic of rodents and divergence time estimates based on two congruent nuclear genes. Molecular Phylogenetics and Evolution 26, 409-420.

Alves E, Óvilo M, Rodríguez C and L. Silió. 2003. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogenetic relatioships among iberian pigs and other domestic and wild pig population. Animal Genetics 34 (5). 319-324.

Andrea M. V., Oliveira C., Rocha G. T. y F. Foresti 2001. Cytogenetical and histological studies in testis of *Tayassu tajacu* (Cateto), *Tayassu pecari* (Queixada) and a tural interspecific hybrid. Journal of Animal Breeding and Genetics 118 125-133.

Arrivillaga, J.C., D.E. Norris, M.D. Feliciangeli, and G.C. Lanzaro. 2002. Phylogeography of the neotropical sand fly Lutzomya longipaupis inferred from mitochondrial DNA sequences. Infection, Genetics, and Evolution 2: 83–95.

Avise J. 2000. Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press. USA. 446 pp.

Avise J. 2004. Molecular Markers, natural History, and Evolution. Segunda edición. Library of Congress Cataloging in publication Data. E.E.U.U. 684 pp.

Ariza W, Toro J y A Lores. 2009. Análisis florístico y estructural de los bosques premontanos en el municipio de Amalfi (Antioquia, Colombia).Revista Colombiana Forestal 12:81-102.

Beerli P. y J. Felsenstein. 1999. Maximum Likelihood Estimation of Migration Rates and Effective Population Numbers in Two Populations Using a Coalescent Approach. Genetics 152: 763-773.

Bodmer, R.E., Sowls, L.K., 1993. The collared peccary (*Tayassu tajacu*). In Oliver, W.L.R (Ed.), Pigs, peccaries, and hippos status survey and conservation action plan. IUCN, Gland, Switzerland, pp. 7–13.

Bodmer R, Puertas P y A Rolando. 1997. Manejo y uso sustentable de pecaríes en la Amazonía peruana. Publicado por La Union Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales. Species Survival Commission No. 18. UICN-Sur, Quito y Secretaria CITES, Ginebra, Suiza.102 pp.

Brower, A.V.Z. 1996. Parallel race formation and the evolution of mimicry in *Heliconius* butterflies: a phylogenetic hypothesis from mitochondrial DNA sequences. Evolution 50: 195–221

Brown J y Lomolino M. 1998. Biogeography. Second Edition. E.E.U.U. Sinauer Associates Inc. pp 177-219.

Brumfield, R.T., and A.P. Capparella. 1996. Historical diversification of birds in northwestern South America: a molecular perspective on the role of vicariant events. Evolution 50: 1607–1624.

Builes D, Loaiza I, y J. Bautista. 2004. Evidencia de estructuración cromosómica asociada con la distribución geográfica de pecarí de collar (*Tayassu tajacu*) de Centro y Suramérica. Memorias VI Congreso Internacional sobre Manejo de Fauna

Silvestre en la Amazonía y Latinoamérica 5 – 10 Septiembre 2004, Iquitos – Perú. Revista Electrónica Manejo de Fauna Silvestre en Latinoamérica. Disponible en: http://www.revistafauna.com.pe/memo.htm

Carvalho de Souza P, Salim Khayat A, Seligmann I, C y R. M. Rodríguez. 2008. Chromosome comparison between populations of the collared peccary, *Tayassu tajacu,* raised in captivity. Biocell 32(2):207-210.

Cioni A, Tonni E, Bargo S, Bond M, Candela M, Carlini A, Deschamps C, Dozo M, Esteban G, Goin F, Montalvo C, N, Noriga J, Ortiz E, Pascual R, Prado J, Reguero M, Scillato-Yané G, Soibelzon L, Verzi D, Vieytes C, Vizcaíno S y M Vucetich. 2007. Mamíferos continentales del mioceno tardío a la actualidad en la Argentina cincuenta años de estudios. Asociación Paleontológica Argentina. Publicación especial 11. Ameghinia:257-278.

Clement M., D Posada and K A Crandall. 2000. TCS: A computer program to estimate gene genealogies. Molecular Ecology 9 (10): 1657-1660.

Crandall KA, Bininda-Edmonds ORP, Mace GM y RK Wayne. 2000. Considering evolutionay processes in conservation biology: an alternative to “evolutionary singnificant units”. Trends in Ecology and Evolution 15 (7): 290-295.

Donkin R. 1985. The Peccary. With observations on the introduction of Pig to the New World. Transactions of the American Philosophical Society. Vol 75, part 5. 159 pp.

Drummond AJ y A Rambaut. 2007. Beast. Bayesian Evolutionary Analysis by Sampling Trees. BMC Evolutiory Biology 7: 214.

Eguiarte L, Souza V y X Aguirre. 2007. Ecología Molecular. Secretaría de Medio

Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 592 pp.

Emmons L. 1999. Mamíferos de los bosques húmedos de América tropical. Una guia de campo. Editorial F.A.N . Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. 298 pp.

Excoffier L, Laval G y S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0 An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online 147- 150.

Fang T, Bodmer R, Puertas P, Aparicio P, Pérez P, Villanes R y D. Hayman. 2008. Certificación de pieles de pecaríes en la amazonía peruana. Una estrategia para la conservación y manejo de fauna silvestre en la amazonía peruana. Primera edición. Lima, Perú. 203 pp.

Frankland R, Ballou J y D Briscoe. 2002. Introduction to conservation genetics. Crambridge, University Press. 617pp.

Gasparini G y E. Zurita. 2005. Primer registro fósil de *Tayassu pecari* (Link) (Mammalia, Artiodactyla) en la Argentina. Ameghia 42 (2): 473-480.

Gómez B. 2010. Densidad y areas de ocupación del pecarí de collar (*Pecari tajacu*) y su relación con el hábitat en el parque nacional Tuparro y La Reserva Natural Punawai. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. Universidad Nacional de Colombia. 139 pp.

Góngora J y C Moran. 2004. Nuclear and mitochondrial evolutionary analyses of collared, White-lipped, and Chacoan peccaries (Tayassuidae). Molecular Phylogenetics and Evolution. 34: 181-189.

Góngora J, Morales S, Berl J y C Moran. 2006. Phylogenetic divisions among Collared peccaries (*Pecari tajacu*) detected using mitochondrial and nuclear sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution 41:1-11.

Grubb P y C Groves.1993. The neotropical tayassuids *Tayassu* and *Catagonus.* In Oliver, W.L.R (Ed.). Pigs, peccaries, and hippos status survey and conservation action plan. IUCN, Gland, Switzerland, pp. 7–13.

Hall, T.A. 1999. BioEdit a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series: 4195-98.

Harvey, M.B., and R.L. Gutberlet, Jr. 2000. A phylogenetic analysis of the tropidurine lizards (Squamata: Tropiduridae), including new characters of squamation and epidermal microstructure. Zoological Journal of the Linnean Society 128: 189–233.

Hedrick P. 2005. Genetics of Populations. Third Edition. Jones and Bartlett Publishers. USA. 725 pp.

Hendey Q. B. 1976. Fossil peccary from the pliocene of south Africa. Sciences, New Series 192 (4241): 787-789.

Hooghiemstra H y T van der Hammen. 1998. Neogene and Quaternary development of the neotropical rain forest: the refugia hypotesis, and a literature overview. Earth-Science Reviews 44: 147-183.

Howell N. 1989. Evolutionary Conservation of Protein Regions in the Protonmotive Cytochrome b and Their Possible Roles in Redox Catalysis. Journal Molecular Evolution, 29157-169.

Hudson RR, Slatkin M y WP Maddison.1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. Genetics 132**:** 583-589.

Huelsenbeck, JP y Ronquist F. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. Bioinformatics 17, 754–755 (2001).

Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. 2004. Biota Colombiana, 5 (001):108-110.

Irwin D M, Kocher T D y A C Wilson. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. Journal of Molecular Evolution 32(2):1288-144.

Jori F, Gama Nogueira-Filho S, Mendes A y S Siqueira. 2004. El manejo colectivo de grandes grupos de pécari de collar (*Tayassu tajacu*) nacidos en cautividad. Memoria VI Congreso internacional sobre manejo de fauna silvestre en la amazonía y Latinoamérica 5-10 de septiembre de 2004, Iquitos-Perú.

Keuroghlian A, Eaton D y W Longland. 2004. Area use by white-lipped and collared peccaries (*Tayassu pecari* and *Tayassu tajacu*) in a tropical forest fragment. Biological Conservation 120: 411-425.

Kiltie, R. 1982. Bite force as a basis for Niche differentiation between rain forest peccaries (*Tayassu tajacu* and *T. pecari*). Biotropica 14 (3):188-195.

Kiltie, R. 1985. Craniomandibular Differences between Rain-forest and Desert Collared Peccaries. American Midland Naturalist 113 (2): 384-387.

Kim K, Lee J, Li K, Zhang Y, Lee S, Gongora J y C. Moran. 2002. Phylogenetic relationship of Asian and European pig breeds determined by mitochondrial D-loop sequence polymorphism. Animal Genetics. 33: 19-25.

Kingman JFC.1982. The coalescent. Sthocastic Processes and Their Aplications 13: 235-248.

Knowles L. 2009. Statistical phylogeography.Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 40: 593-612.

Kuhner M, Yamato J y J Felsenstein. 1995. Estimating Effective Population Size and Mutation Rate From Sequence Data Using Metropolis-Hasting Sampling. Genetics 140: 1421-1430.

Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chen R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ y DG Higgins. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics, 23 (21) 2947-2948.

Lemey P, Salemi M y A Vandamme. 2009. Molecular Clock Analysis en The Phylogenetic Handbook: a Practical Approach to Phylogenetic Analysis and Hypotesis Testing. Cambridge University Press. 362-382.

Librado, P y J Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.

Maddison D y W Madison. 2005. MacClade 4,08. Analysis of Phylogeny and Character Evolution (Version 4.08) MacClade 4.08. Released 25 July 2005. Sinauer Associates, Inc. Publishers.

Mayor P, Guimaraes D y M López-Béjarano. 2004. Metodología diagnóstica de gestación en el pecarí de collar ecografía transabdominal, palpación abdominal y perfiles hormonales de estradiol y progesterona. Memorias VI Congreso Internacional sobre Manejo de Fauna Silvestre en la Amazonía y Latinoamérica 5

– 10 Septiembre 2004, Iquitos – Perú. Revista Electrónica Manejo de Fauna Silvestre en Latinoamérica. Disponible: http://www.revistafauna.com.pe/memo.htm.

Mendes A y D Chivers. 2007. Peccary movements as determinants of the movements of large cats in Brazilian Amazonia. Journal of Zoology. 273: 257-265.

Montenegro-Díaz O, Sánchez P, Mesa E, Sarmiento C y B. Gómez. 2008. Determinación de la Distribución de las dos Especies de Saínos en Colombia como Primer Paso para Caracterizar desde el Punto de Vista Sanitario las Poblaciones Silvestres de Saínos Presentes en el Territorio nacional, Respecto a la Presencia de Peste Porcina Clásica, en el Marco de la Política nacional de Sanidad Pecuaria. Convenio de Cooperación Científica, Tecnológica y Financiera entre el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial y la Universidad Nacional de Colombia No. 225. Bogotá-Colombia.

Neal, B. 1959. A contribution on the life history of the collared pecari in Arizona. American Midland Naturalist. 61(1):177-190.

Ojasti J. 1993. Utilización de la Fauna Silvestre en América Latina. Situación y Perspectivas para un manejo sostenible. Guía FAO Conservación 25. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 230 pp.

Panchal M. 2007. The Automation of Nested Clade Phylogeographic Analysis. Bioinformatics, 23:509-510.

Peakall R. and Smouse P.E. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6: 288-295.

Pino J y J Forero 2008. Acercamiento Arqueológico al Estudio de las Expresiones Rupestres en un Contexto de cavernas en el Departamento de Antioquia, Colombia. International Journal of South American Archaeology 2: 57-65

Posada D. y K. A. Crandall. 1998. Modeltest testing the model of DNA substitution. Bioinformatics 14: 817-818.

Posada D, Crandall KA y A. Templeton. 2000. GEODIS A program for the cladistic nested analyses of the geographical distribution of genetic haplotypes. Molecular Ecology. 9: 487-488.

Prothero D y Foss S. 2007. The Evolution of Artiodactyls. The Johns Hopkins University Press. E.E.U.U.. 367 pp.

Rambaut A. 2009. FigTree, Tree figure drawing tool, version 1.3.1, Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Germany.

Reig, OA. 1984. Distribucão geografica e historia evolutiva dos roedores muroideos sulamericanos (Cricetidae:Sigmodontinae). Revista Brasileña de *Genetica* 7: 333-365

Rodríguez-Mahecha J, Alberico M, Trujillo F y J Jorgenson. 2006. Libro Rojo de los Mamíferos de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amezadas de Colombia. Conservación Intercionacional Colombia & Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogotá, Colombia. 433 pp.

Rosenberg M.S. 2001. PASSAGE. Pattern analysis, spatial statistics and geographic exegesis. Version 1.0. Department of Biology, Arizona State University, Tempe, AZ.

Semarnat, Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. 2008. Plan de manejo tipo de pecarí de collar en climas áridos y semiáridos del Norte de México. México D.F. 30 pp.

Sequencher 4.1.4. Gene Codes Corporation. 1991-2002

Smith MF y JL Patton. 1993. The diversification of South American murid rodents evidence from mitochondrial DNA sequence data for the akodontine tribe. Biological Journal of the Linnean Society 50:149–177.

Smith MF y JL Patton. 1999. Phylogenetic Relationships and the Radiation of Sigmodontine Rodens in South America: Evidence from Cytocrome b. Journal of Mammalian Evolution, 6 (2): 89-128.

Sowls, L. 1997. Javalis and other peccaries, Their Biology, Management and Use. Second Edition. Texas University Press. USA.

Swofford D L. 2002. PAUP. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods). Versión 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Tamura K, Dudley J, Nei M y S Kumar. 2007. MEGA 4, Molecular Evolutionary Genetic Analysis software version 4.0. Molecular Biology and Evolution 24:1596-1599.

Templeton A, Routman E y C Phillips.1995. Separating populations structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. Genetics 140: 767-782.

Templeton A. 1998. Nested clade análisis of phylogeographic data testing hipótesis about gene flow and population history. Molecular Ecology 7:381-397.

Theodor J. 2004. Molecular clock divergence estimates and the fóssil record of Cetartiodactyla. Journal of Paleontology 78 (1): 39-44.

Venegas-Anaya M, Crawford AJ, Escobedo Galva´ n AH, Sanjur OI, Densmore III LD, Bermingham E. 2008. Mitochondrial DNA phylogeography of *Caiman crocodilus* in Mesoamerica and South America. J. Exp. Zool. 309A:614–627.

Weksler M. 2006. Phylogenetic Relationships of Oyyzomine rodents (Muroidea: Sigmodontinae): Separate and Combined analyses of morphological and Molecular data. Bulletin of the American Museum of Natural History NY. Number 296, 149 pp.

Wilson D y D Reeder. 1993. Mammal species of the World. A taxonomic and Geographic reference. Second Edition, 1206 pp.

Wright D. 1993. Evolution of sexually dimorphic characters in peccaries (Mammalia, Tayassuidae). Paleobiology, 19(1): 52-70.

Fuentes de Internet:

CITES, Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre. 2010 Apéndices I, II y III. P. 42. Disponible en: http://www.cites.es

Parques Nacionales Naturales de Colombia. Nuevas áreas y ampliaciones, Disponible en: http://www.parquesnacionales.gov.co. Último acceso: Noviembre 2010.

Statistix for windows 9. Analytical software. Disponible en: http://www.statistix.com.

Tapir Specialist Group, Genetics Committee. Sampling Techniques for Genetics Analysis. Disponible en: http//www.tapirs.org. Ultimo acceso: 4 de octubre de 2010.

Ungulates on the WWW. Huffman B.
Disponible en: http://www.ultimateungulate.com. Último acceso 12 de junio de 2009.

UICN. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. Disponible en: http://www.iucn.org. Último acceso: 12 de junio de 2009.

Fundación Zoológico Santacruz. Disponible: www.zoologicosantacruz.com. Último acceso: 10 de marzo de 2010.