



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

**Diversidad genética y conservación de las poblaciones mexicanas
de oso negro (*Ursus americanus*)**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

Luis Antonio Juárez Casillas

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Fernando A. Cervantes Reza
Instituto de Biología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Rogelio A. Alonso Morales
Facultad de Veterinaria Medicina y Zootecnia, UNAM
Dr. Adrián Nieto Montes de Oca
Facultad de Ciencias, UNAM

MÉXICO, D.F. Septiembre, 2013.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

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

Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 3 de junio de 2013, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del alumno **JUÁREZ CASILLAS LUIS ANTONIO** con número de cuenta **91198752** con la tesis titulada: "**Diversidad genética y conservación de las poblaciones mexicanas de oso negro (*Ursus americanus*)**", realizada bajo la dirección del **DR. FERNANDO ALFREDO CERVANTES REZA:**

Presidente:	DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA
Vocal:	DR. JOAQUÍN ARROYO CABRALES
Secretario:	DR. ROGELIO ALEJANDRO ALONSO MORALES
Suplente:	DRA. BERTHA PATRICIA ESCALANTE PLIEGO
Suplente	DRA. DULCE MARÍA BROUSSET HERNÁNDEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 14 de agosto de 2013.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por permitirme realizar mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento que proporcionó durante la realización de los estudios de Posgrado (CONACyT-165031)

Con respeto y admiración a los miembros del comité tutorial:

Dr. Fernando A. Cervantes Reza

Dr. Rogelio A. Alonso Morales

Dr. Adrián Montes de Oca

Por haberme brindado la asesoría y sobre todo su confianza para la realización de este trabajo, que gracias a su dirección, supervisión y experiencia académica se pudo concluir el presente proyecto.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

En primera instancia deseo expresar un agradecimiento muy especial a la Dra. Cora Varas, quién con su valiosa asesoría y sobre todo su apoyo y amistad que me brindó fue posible realizar este trabajo, por lo que parte de este proyecto se lo debo a su persona.

A la Escuela de Recursos Naturales de la Universidad de Arizona por haberme permitido realizar varias estancias en sus instalaciones, y así poder realizar el trabajo de laboratorio requerido para este proyecto.

A los miembros del jurado:

Dra. Livia Socorro León Paniagua

Dr. Joaquín Arroyo Cabrales

Dr. Rogelio Alejandro Alonso Morales

Dra. Bertha Patricia Escalante Pliego

Dra. Dulce María Brousset Hernández

Por el tiempo e interés invertidos en la revisión de esta tesis.

A mis amigos de la Colección Nacional de Mamíferos de la UNAM, con quienes he compartido momentos agradables y quienes siempre me recordaron que tenía la capacidad para alcanzar esta meta.

A todas aquellas personas que facilitaron mi estancia en el norte del País y que de alguna manera estuvieron involucradas con el trabajo en campo.

DEDICATORIA

*Principalmente a mis **Padres** que en todo momento me brindaron la confianza necesaria para alcanzar una meta más, tanto en mi vida profesional como personal.*

*A mis **Hermanos** y sobre todo a mis **Sobrinos** por brindar alegría y sentido a mi vida y por ser quienes son.*

Resumen.....	1
---------------------	----------

Abstract	3
-----------------------	----------

Introducción

1.1. Descripción.....	5
1.2. Distribución.....	7
1.3. Situación actual.....	8
1.4. Literatura citada	10

Black bears (*Ursus americanus*) in Mexico. An update of literature review

2.1. Introduction	12
2.2. Materials and Methods	13
2.3. Results	
2.3.1. Literature and scientific collections review.....	14
2.3.2. Status of Mexican black bears	18
2.3.3. Current habitat, diet, genetic structure, density and conflicts	
2.3.3.1. Habitat research	25
2.3.3.2. Diet	28
2.3.3.3. Genetic structure	29
2.3.3.4. Density	29
2.3.3.5. Threats and conflicts	31
2.4. Discussion.....	33
2.5. Literature cited	37

Análisis filogenético del linaje evolutivo del oso negro (*Ursus americanus*) de México

3.1. Introducción.....	49
3.2. Material y Métodos	
3.2.1. Área de estudio	54
3.2.2. Recolecta de las muestras	54
3.2.3. Extracción del DNA.....	55
3.2.4. Amplificación y secuenciación del DNA	56
3.2.5. Obtención de secuencias adicionales	56
3.2.6. Diversidad y estructura genética	57
3.2.7. Análisis filogenético	58
3.2.8. Tiempo de divergencia	59
3.3. Resultados	
3.3.1. Diversidad y estructura genética	59
3.3.2. Análisis filogenético y tiempo de divergencia.....	66
3.4. Discusión.....	69
3.5. Conclusiones	75
3.6. Literatura citada	76

Diet of black bear (*Ursus americanus*) and its consequences in bear conservation in Sierra de Picachos, Nuevo Leon, México

4.1. Introduction	88
4.2. Materials and Methods	
4.2.1. Study area	90
4.2.2. Scat collection in the field	91
4.2.3. Scat analysis in laboratory.....	92

4.3. Results	
4.3.1. Scat analysis	93
4.3.2. Variation in the percentage of Ocurrance (PO) of food components 	95
4.3.3. Variation in the percentage of Volume (PV) of food components 	95
4.3.4. Trophic diversity	95
4.4. Discussion.....	96
4.5. Conclusions and Recommendations	98
4.6. Literature cited	100
Discusión y Recomendaciones.....	106
Conclusiones Generales	115
Apéndice	
Artículo: Genética evolutiva y molecular de la familia Ursidae: Una revisión bibliográfica actualizada	

Figura 1. Oso negro americano (<i>Ursus americanus</i>)	5
Figura 2. (A) acercamiento de los dientes del oso negro (<i>Ursus americanus</i>) en donde se aprecia la modificación del complejo carnasial. (B) acercamiento de la dentición de un jaguar (<i>Panthera onca</i>), en donde se muestran los carnasiales bien desarrollados.	6
Figura 3. Distribución histórica y actual del oso negro	7
Figura 4. Historical and current publish black bear presence sites in Mexico, taken from grey and publish documents used in this paper. Starts represent Universal Transverse Mercator (UTM) geographic coordinate system as indicated in original documents.....	18
Figura 5. Map of Mexico where are showing the locality where black bear studies have been conducted.	26
Figura 6. Distribución histórica de las poblaciones de oso negro americano	49
Figura 7. Distribución de los clados Continental y de la costa que presenta el oso negro americano	52
Figura 8. Ubicación geográfica de las localidades de donde provienen las secuencias y el material colectado de oso negro (<i>Ursus americanus</i>), a lo largo de toda su área de distribución.	55
Figura 9. Ubicación geográfica de las haplotipos del gen Región Control del DNA mitocondrial obtenidos para el oso negro americano (<i>Ursus americanus</i>), a lo largo de toda su área de distribución actual. Los haplotipos descritos por Wooding y Ward (1997), se representan con los números 1 al 19, los descritos por Onorato <i>et al.</i> (2004) con las letras A a la E y los descritos por Van Den Bussche <i>et al.</i> (2009) con las letras F a la M. El resto son haplotipos encontrados en este estudio.	60

- Figura 10.** Red de haplotipos para las secuencias del gen Región Control del DNA mitocondrial del oso negro americano (*Ursus americanus*). Los círculos sobre las líneas corresponden al número total de pasos mutacionales; donde no se aprecia un círculo sobre la línea, implica un solo paso. Los haplotipos que se encuentran dentro del cuadrado corresponden a los encontrados sobre la Sierra Madre Oriental, mientras que las que se incluyen dentro del círculo corresponden a la Sierra Madre Occidental. **63**
- Figura 11.** Gráfico de la prueba de Mantel que muestra la pendiente y la asociación positiva entre la distribución geográfica y la distancia genética de las poblaciones de México-Arizona de oso negro americano **66**
- Figura 12.** Árbol de probabilidades posteriores construido con secuencias de la Región Control del oso negro americano bajo el modelo de sustitución de nucleótidos GTR+G. **67**
- Figura 13.** Árbol construido bajo el criterio de máxima verosimilitud, generado con la opción de búsqueda de branch and bound para secuencias de la Región Control del oso negro americano bajo el modelo de sustitución de nucleótidos GTR+G. Los números encima de las ramas corresponden a los valores de bootstrap (100 réplicas). **68**
- Figura 14.** Location of the study area at the state of Nuevo Leon, Mexico. **90**

Cuadro 1. Scientific collections, locality and catalogue number of <i>Ursus americanus</i> specimens from the Sierra Madre Occidental. Data obtained from the Information Facility and the Arctos Multi-Institution-Multi-Collection-Museum Database.....	16
Cuadro 2. Scientific collections, locality and catalogue number of <i>Ursus americanus</i> specimens from the Sierra Madre Oriental. Data obtained from the Information Facility and the Arctos Multi-Institution-Multi-Collection-Museum Database.....	17
Cuadro 3. Distribución de los haplotipos de la Región Control del DNA mitocondrial obtenidos por vez primera para <i>Ursus americanus</i> en México.....	61
Cuadro 4. Diversidad genética de las diferentes poblaciones de oso negro americano de la Sierra Madre Oriental y Sierra Madre Occidental, México. Se muestra el tamaño de muestra (N), número promedio de diferencias nucleotídicas (k), la diversidad haplotípica (h) y la diversidad nucleotídica (π)....	62
Cuadro 5. Matriz de distancias genéticas construida con los haplotipos de la Región Control de las poblaciones mexicanas de oso negro americano (<i>Ursus americanus</i>), bajo el modelo de sustitución de nucleótidos K2P. En la parte inferior se encuentran los porcentajes de divergencia genética y en la parte superior el número de diferencias entre pares de secuencias. Los valores más altos y bajos se encuentran dentro de un recuadro.	64
Cuadro 6. Medidas de diferenciación genética pareada entre las poblaciones de <i>Ursus americanus</i> basado en el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA). Cálculos basados en el análisis de un fragmento de 373 pb de la Región Control Mitocondrial.....	65
Cuadro 7. List and percentage of occurrence of the plant and animal items present in the diet of the black bear in Sierra de Picachos, Nuevo Leon, Mexico.....	94

RESUMEN

Históricamente el oso negro americano se distribuyó ampliamente en el norte de México. A mediados del siglo XX, su distribución se redujo aproximadamente al 20%, sin embargo, en los últimos años ha habido un aumento en el número de observaciones de este mamífero en parte de su distribución histórica, lo que sugiere que los osos negros posiblemente se están dispersando y recuperando parte de su hábitat histórico. A pesar de que este úrsido es uno de los principales mamíferos que habita el territorio mexicano, hay poco conocimiento científico generado en lo que concierne a su historia de vida. Por lo que en este trabajo se presenta información sobre la presencia de oso negro en la Sierra Madre Occidental y la Sierra madre Oriental, organizado por estado. También se presenta la investigación disponible sobre su hábitat, dieta y densidad poblacional. Se incluyeron publicaciones de revistas científicas, tesis, y literatura gris. El objetivo de esta investigación fue el de presentar datos nacionales para demostrar donde se han conducidos estudios sobre este oso y en donde hay necesidad de investigación.

Los cambios climáticos del Pleistoceno forzaron al oso negro a buscar refugios en dos regiones de Norteamérica, uno en el Pacífico y otro en la parte del Atlántico, formando la presente estructura demográfica genética. Estudios previos sugieren a partir del análisis de la variación de la secuencia del DNA mitocondrial (región de control), la presencia de dos linajes evolutivos, uno en el Pacífico (clado de la costa) y otro Continental. Estos análisis han incluido poblaciones del oso negro en gran parte de su distribución, dejando de lado a las poblaciones mexicanas, por lo que su historia evolutiva ha sido explicada de manera parcial. Este estudio presenta un análisis filogenético de las poblaciones del oso negro americano, examinando 26 haplotipos de un fragmento de 373 pb de la Región Control del DNA mitocondrial, provenientes de ocho poblaciones mexicanas que además incluyó las secuencias descargadas de 32 haplotipos previamente publicados de esta especie. Nuestros resultados confirman la presencia de los dos linajes evolutivos previamente descritos. Las poblaciones

mexicanas de oso negro quedaron inmersas dentro del linaje Continental. El análisis realizado para México, no presentó una definición en la estructura filogenética entre la Sierra Madre Oriental y Sierra Madre Occidental, sin embargo, se encontró una discontinuidad genética entre ambas Sierras, presentando un origen de los sublinajes de 1.09 millones de años. La diversidad genética que presentaron las poblaciones mexicanas de oso negro fue de moderada a alta en comparación a otras poblaciones distribuidas más al norte.

Se cree que el oso negro depreda ganado, destruye cultivos y propiedades privadas, por lo que los pobladores locales los cazan ilegalmente bajo el argumento de proteger su subsistencia. Existe la necesidad de investigar los requerimientos ecológicos de este úrsido para crear planes de conservación y manejo que incluyan prácticas que minimicen conflictos entre humanos y osos. Se determinó la dieta del oso negro en la Sierra de Picachos, ubicada en la región noreste del Estado de Nuevo León, México. Nuestro objetivo fue determinar la dieta del oso negro durante tres temporadas (seca, lluvias y post-lluvias) a lo largo de un año y determinar la presencia y porcentaje de consumo de especies silvestres, ganado y cultivos por medio del análisis de excrementos de osos. Se recogieron 169 excrementos de Diciembre del 2004 a Noviembre del 2005 y se estimó la composición de su dieta en porcentaje de aparición y en volumen de cada categoría de alimento. Las plantas fueron los elementos más comúnmente consumidos (73.5%), seguido de los animales (16.8%), y finalmente fragmentos sin determinar (9.8%). No se localizaron diferencias estadísticamente significativas en el consumo de alimentos entre las estaciones estudiadas. No se encontraron evidencias de consumo de ganado por osos. Se recomienda implementar un Programa de Manejo y gestión que incluya amplia información a la población local sobre el comportamiento del oso y acciones específicas para mejorar la calidad del hábitat de estos animales y así minimizar los conflictos entre humanos y osos.

ABSTRACT

Black bears are widely distributed in North of Mexico. By the middle of the twentieth-century their distribution was reduced to about 20%, however, in recent years, there has been an increase in the number of black bears sightings in some of their historic distribution, suggesting that black bears in Mexico may be dispersing and recovering historical habitats. In spite of the fact that the black bear is one of the important mammals that inhabits Mexican territory, there is little knowledge concerning its life history. We present information about black bear presence in the Sierra Madre Occidental and Sierra Madre Oriental. Also, we present a review of available research results on habitat, diet and population density. We include a review of peer-reviewed publications, theses, and grey literature. Our goal is to present a country-wide overview to show where studies of black bears have been conducted, where there is need for further research.

The climatic changes from Pleistocene drove black bears to seek refuge in two regions of North America, one in the Pacific side and other in the Atlantic side, shaping the present genetic structure of this ursid. Literature reports attempting to confirm these hypotheses have not included samples from Mexico. Therefore, this research examined the genetic variation of black bear populations from all over its range, to find out if Mexican populations of the black belong to the phylogenetic branch of the Pacific clade or to that of the Continental clade. DNA sequences of the mitochondrial control region were obtained from scat samples collected in northern Mexico and from data downloaded from GenBank. Phylogenetic analyses confirmed the existence of two clades. In addition, our data also showed that Mexican populations of the black bear are nested into the phylogenetic branch of the Continental side. This research thus supports that genetic structure of Mexican black bears may have been influenced by climatic changes of the last glaciations period. Further research is needed to better understand genetic distances between eastern and western populations of Mexican black bears. Conservation efforts to protect black bears in Mexico must consider their origin and phylogenetic relationships.

In northern Mexico, bears are considered responsible for preying on livestock, damaging private property, and crops; therefore they are killed to protect locals' livelihoods. There is a need to understand bears' ecological requirements in order to improve conservation and management plans that include human-bear conflict resolution and reduce the illegal hunting of this endangered species. We studied the diet of black bears in the Sierra de Picachos located in the Northeast portion of the State of Nuevo Leon, Mexico. Our objective was to determine the diet of black bears during three consecutive seasons (i.e., dry, rainy, and post-rainy) throughout a year, and to determine the presence and frequency of livestock and crops remains in bear scats. We collected 169 scats from December 2004 to November 2005, and estimated diet composition using percentage of occurrence and volume of each food item. Plants were the most common food item (73.5%), followed by animal's food items (16.8 %), and debris (9.8%). There was no statistically significant difference among seasons. Our analysis found no traces of cattle consumed in any of the scats; therefore, black bears in the study site either do not or rarely feed upon livestock. We recommend that management programs include wide information to local's people on bear behavior and strategies for decrease conflicts. Also, specific actions to avoid bear proximity should be implemented together with government actions aimed to improving bear habitat quality, and then minimize bear-human conflict in the area.

INTRODUCCIÓN

1.1. DESCRIPCIÓN

El oso negro (*Ursus americanus*; Fig. 1) pertenece a la familia Ursidae incluida dentro del orden Carnívora; presenta una longitud total de 1,300-2,000 mm; longitud de la cola: 100-130 mm; longitud de la pata trasera: 215-280 mm; longitud de la oreja: 120-140 mm; altura a la cruz: 610-920 mm, además dependiendo de la localidad geográfica y de la disponibilidad de alimento, su peso corporal oscila entre los 90 y 216 kg, siendo las hembras aproximadamente 20% más pequeñas que los machos (Herrero, 1985; Novak, 1991).

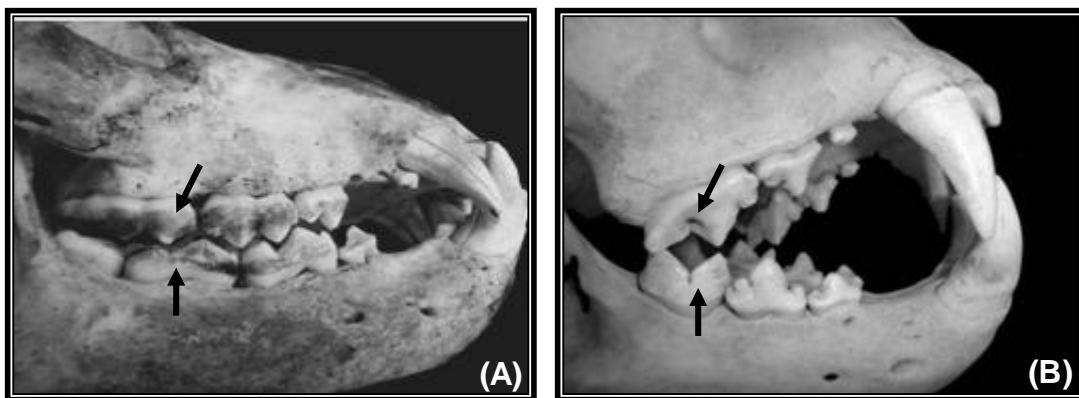
Figura 1. Oso negro americano (*Ursus americanus*; tomado de www.elhurgador.blogspot.com).



El pelo es corto, lacio y dependiendo de la localidad varía desde el negro, café y café canela, hasta el beige, a excepción del área cercana al hocico que es de color miel (Leopold, 1977; Rounds, 1987). Esta especie presenta una locomoción plantígrada, las patas delanteras son tan largas como anchas, las traseras más largas que anchas. Las uñas no miden más de 50 mm de longitud, de color negro y no retráctiles (Larivière, 2001).

El cráneo es relativamente alargado (usualmente 270 mm), su fórmula dentaria es: I 3/3, C 1/1, PM 4/4, M 2/3 = 42. El complejo carnasial (cuarto premolar superior y el primer molar inferior) perdió su función cortante ya que los molares y premolares se hicieron cuadrados con cúspides redondeadas; ésta dentición favorece una dieta omnívora (Larivière, 2001; Fig. 2).

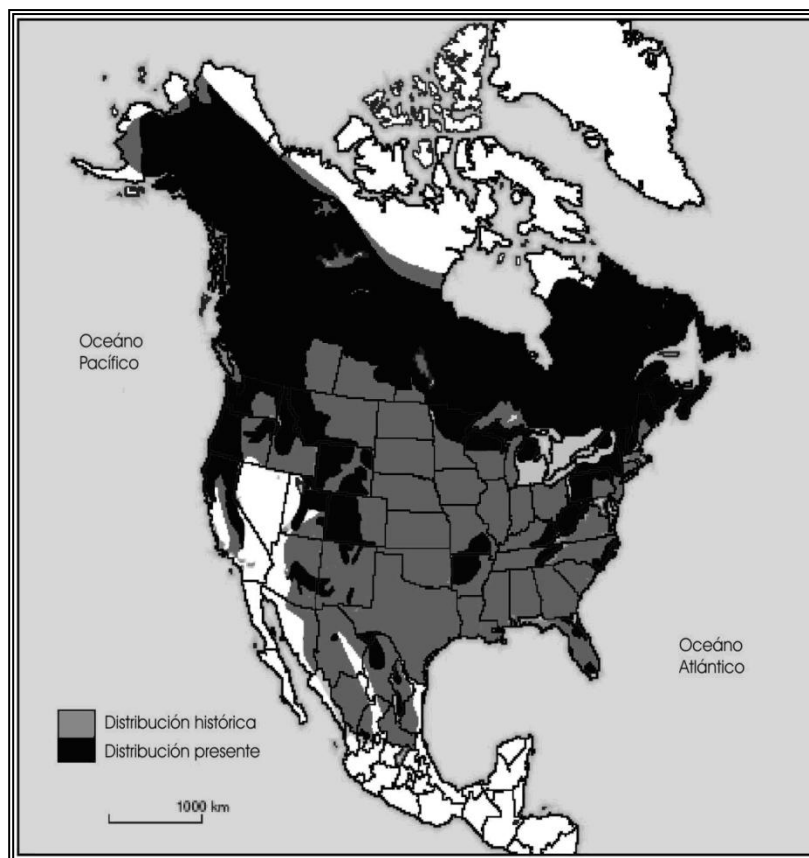
Figura 2. (A) acercamiento de los dientes del oso negro (*Ursus americanus*) en donde se aprecia la modificación del complejo carnasial. (B) acercamiento de la dentición de un jaguar (*Panthera onca*), en donde se muestran los carnasiales bien desarrollados.



1.2. DISTRIBUCIÓN

El oso negro americano se distribuye desde el norte de Alaska hasta la región norte de la República Mexicana (Servheen *et al.*, 1999; Fig. 3) reconociéndose 16 subespecies (Hall, 1981).

Figura 3. Distribución histórica y actual del oso negro (Tomado de Servheen *et al.*, 1999).



En México, algunos autores consideran que se distribuyen dos subespecies que son *U. a. machetes* y *U. a. eremicus* (Ramírez-Pulido *et al.*, 1996), mientras que otros incluyen a la subespecie *U. a. amblyiceps* (Hall, 1981; Moctezuma y Doan-Crider, 2005).

En general el área de distribución de esta especie ha sufrido una dramática disminución ya que en el pasado se extendió, más al sur que en la actualidad, abarcando los bosques templados de las Sierras Madre Oriental, Madre Occidental y las sierras adyacentes, reportándose poblaciones estables en los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Jalisco, Nuevo León, Nayarit, Sinaloa, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas (Moctezuma y Doan-Crider, 2005).

Actualmente existe poca información sobre la distribución y estado del oso negro en México, reportándose poblaciones estables en Tamaulipas, Nuevo León, Coahuila y Sonora; por el contrario existen escasos registros al sur de Chihuahua y Durango, y se desconoce la situación exacta de sus poblaciones en Zacatecas (Hall, 1981; Moctezuma y Doan-Crider, 2005).

1.3. SITUACIÓN ACTUAL

Las poblaciones mexicanas de oso negro han sufrido una importante reducción en su área de distribución (SEMARNT, 2002), lo que probablemente ha estructurado genéticamente a las poblaciones, es decir, los cruzamientos entre individuos de dichas poblaciones se ven limitados principalmente por la distancia, de modo que los organismos tendrán una mayor probabilidad de aparearse con vecinos que con individuos más lejanos, lo que provoca una mayor diferenciación genética entre las poblaciones cuyo flujo génico es menor o nulo (Hedrick, 2005).

Esto obligó a buscar alternativas e implementar acciones que permitieran la conservación de *Ursus americanus*, por lo que en México se prohibió indefinidamente su caza a partir de 1986, clasificando a este mamífero como una especie amenazada. En 1994 el estatus de conservación cambió a peligro de extinción (SEMARNT, 2002). Además se encuentra listado en el Apéndice II de la Convención sobre Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres (CITES, por sus siglas en inglés; <http://www.cites.org/eng/app/appendices.pdf>).

Gracias a la amplia adaptabilidad que presenta el oso negro americano a diferentes entornos, a su amplio espectro trófico, su gran capacidad para vivir en proximidad con los humanos y a la protección que se les ha brindado principalmente por parte de los ganaderos locales, se ha observado un fenómeno de dispersión a áreas aledañas dentro de su área de distribución histórica.

Por desgracia el conocimiento generado sobre el oso negro americano en México, se encuentra muy fragmentado y aislado en forma de tesis, reportes, y demás literatura que no se ha dado a conocer a la comunidad científica en forma de publicaciones científicas. Este fenómeno no ha permitido conocer la situación actual que presentan las poblaciones de este úrsido en nuestro país, de aquí la importancia de haber desarrollado el siguiente capítulo, en cual se compila información histórica y actual de este mamífero en territorio mexicano y que servirá como apoyo para la implementación de estrategias de conservación para esta especie.

1.4. LITERATURA CITADA

- HALL, E. R. 1981. The mammals of North America . 2^{da} ed. John Wiley and Sons, New York, N.Y. 1181 pp.
- HERRERO, S. 1985. *Bear attacks. Their causes and avoidance*. Lyons & Burford. New York, 287 pp.
- LEOPOLD, A. S. 1977. Fauna Silvestre de México. Reimpresión. Editorial Pax. México.
- LARIVIÉRE, S. 2001. Mammalian Species 647:1-11 pp.
- LISTA DE ESPECIES CITES. 2001. Una referencia a los Apéndices de la Conservación sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. Secretaría de la CITES/PNUMA Centro de Monitoreo de La Conservación Mundial. Unwind Brothers, Martins Printing Group, Old Working, Surrey. página de Internet (fecha de consulta 24 agosto de 2005). Disponible en: <http://www.cites.org/eng/app/appendices.pdf>
- MOCTEZUMA, O. Y D. DOAN-CRIDER. 2005. Oso negro americano. 419-422 p. En: Los mamíferos silvestres de México. (Edts.). Ceballos, G. O. Gise. Edit.
- NOVAK, R. M. 1991. *Walker's Mammals of the World*. John Hopkins. Baltimore.
- ROUNDS, R. C. 1987. Distribution and analysis of colourmorphs of the black bear (*Ursus americanus*). Journal of Biogeography 14: 521-538.
- RAMÍREZ-PULIDO, J. A. CASTRO-CAMPILLO, J. ARROYO C. Y F. A. CERVANTES-REZA. 1996. Lista taxonómica de los mamíferos terrestres de México. Occasional Papers Museum, Texas Tech University, 158: 1-62.

SERVHEEN, C., H. HERRERO Y B. PEYTON. 1999. Bears: Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Bear and Polar Bear. Specialist Groups, 306 pp.

CAPITULO I

BLACK BEARS (*Ursus americanus*) IN MEXICO. AN UPDATE OF LITERATURE REVIEW

2.1. INTRODUCTION

The American black bear was once a species characterized by its extensive distribution throughout Mexico. The first report of the American black bear (*Ursus americanus*) in Mexico is credited to Elliot (1903) in Casas Grandes, Chihuahua. Three subspecies have been reported in Mexico (*U. a. machetes*, *U. a. eremicus* and *U. a. amblyceps*; Hall, 1981; Doan-Crider and Hellgren, 1996), though some authors consider that only the first two of these subspecies are actually distributed in Mexican territory (RamírezPulido *et al.*, 1996). Historically black bears lived in the temperate forests of the Sierra Madre Oriental, Madre Occidental and adjacent mountains, within the states of Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo Leon, Tamaulipas, Durango, Zacatecas (Leopold, 1959, Pelton *et al.* 1999), Nayarit (Baker and Greer, 1962), Aguascalientes, Sinaloa, and San Luis Potosi (Hall, 1981).

The distribution of black bears in Mexico has been reduced to 20% of its historical range as result of habitat destruction, and poaching (INE/SEMARNAP, 1999). This forced Mexico to seek alternatives and implement actions to facilitate its conservation. In this process, only *U. a. eremicus*, distributed in the Sierra Madre Oriental was classified in 1986 as threatened and hunting was banned indefinitely. By 1994 its status was changed to endangered, except for the population in the Serranía del Burro in northern Coahuila, which is listed as Species of Special Concern (SEMARNAT, 2010a). Currently, the complete

distribution and status of the black bear in Mexico is unclear in some areas of its historical range. However, it has been reported that stable populations persist in Tamaulipas, Nuevo Leon, Coahuila, Chihuahua, and Sonora, with a few records in Chihuahua and Durango, with little information from Zacatecas and San Luis Potosi (Medellin *et al.*, 2005, Moctezuma-Orozco; Doan-Crider, 2005; Zepeda-Gonzales *et al.*, 1997).

In spite of the fact that black bears in Mexico are considered endangered, they confront multiple threats. Increase of human population in bear territory, loss and fragmentation of habitat are among the most important (Pelton *et al.*, 1999). Black bears are poached; mainly in areas where they are in direct contact with humans (Delgadillo-Villalobos, 2011). These threats could be mitigated with education and management plans based on comprehensive scientific knowledge. However, scientific information about black bears in Mexico is scattered and incomplete to the point that even their current distribution is unclear. Documents with up to date information are in the form of theses and unpublished documents, mostly written in Spanish. Our goal for this review is to present a summary of black bear research in terms of historical and current distribution in Mexico and to obtain the current knowledge of its habitat requirements, diet, and density estimations in Mexico.

2.2. MATERIALS AND METHODS

We searched for peer-reviewed documents that contained information about black bears in Mexico by exploring the web of science. We also consulted Mexican and foreign scientific collections databases available on the Internet,

such as the Global Biodiversity Information Facility, Global Biodiversity Information, and Arctos Multi-Institution-Multi-Collection Museum. We reviewed databases of Mexican University libraries where they have biological sciences in their curriculum (veterinary, agronomy, forest sciences, etc.). We obtained access to theses, dissertations and technical reports and condensed information about black bear's historical and current presence. We summarized for each document, research goals, area of study and main results. Finally we contacted Governmental and Non-Governmental organizations (Secretaría del Medio Ambiente del Estado de Coahuila (SEMARNAC), Protección de la Fauna Mexicana A.C. (PROFAUNA), Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA) and the Consejo Estatal de Flora y Fauna Silvestre de Nuevo León (CEFFSNL) to obtain up to date studies about black bear conservation and human-bear interactions.

We collected published sightings of black bears with geographic references, if there were more than one at the same location; we used only one sighting to avoid an overcrowded map. We then, exported the database to a Geographic Information Systems (ArcView view. 3.2; ESRI, 1999) to generate a map.

2.3. RESULTS

2.3.1. Literature and scientific collections review

We found 61 scientific published documents and 12 museum collection records between the years of 1899 to 2011. Thirty-eight citations were black bear studies, while the rest were mammal inventories, institutional reports, or other studies in which the presence *U. americanus* was mentioned.

The main sources of information for this review are theses and dissertations that have not been published (23), and national or international peer-reviewed published research papers (23), followed by non-peer reviewed documents such as manuals, reports, and bulletins (6), books or book chapters (8), conferences abstracts and symposia (2), Mexican scientific collections (4), international scientific collections (9), and online sources (1).

One hundred and eighteen localities reported black bear presence, 100 records show the current presence of black bears as shown in a distribution map (Fig. 4). Most localities were from four of the 14 Mexican states: Coahuila (52), Nuevo Leon (20), Chihuahua (10), and Sonora (6). Fewer records were found in Durango (3), Tamaulipas (2), Zacatecas (2), Jalisco (1), Nayarit (1), Queretaro (1), Guanajuato (1) and Hidalgo (1).

Our data-base of black bear records obtained from scientific collections includes 65 records from six Mexican states (Table 1 and 2); Coahuila (28), Chihuahua (23), Sonora (7), Durango (2) Nuevo Leon (4) and Hidalgo (1). Fifty four records (83%) are from ten foreign collections, while 11 records (17%) are concentrated in four national collections: CNMA (three, Colección Nacional de Mamíferos), UANL (four, Colección de Mamíferos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León), CM-UAEH (one, Colección de Mamíferos del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo) and the mammal collection at CIAD (three, Centro de Educación Ambiental e Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC, Unidad Guaymas).

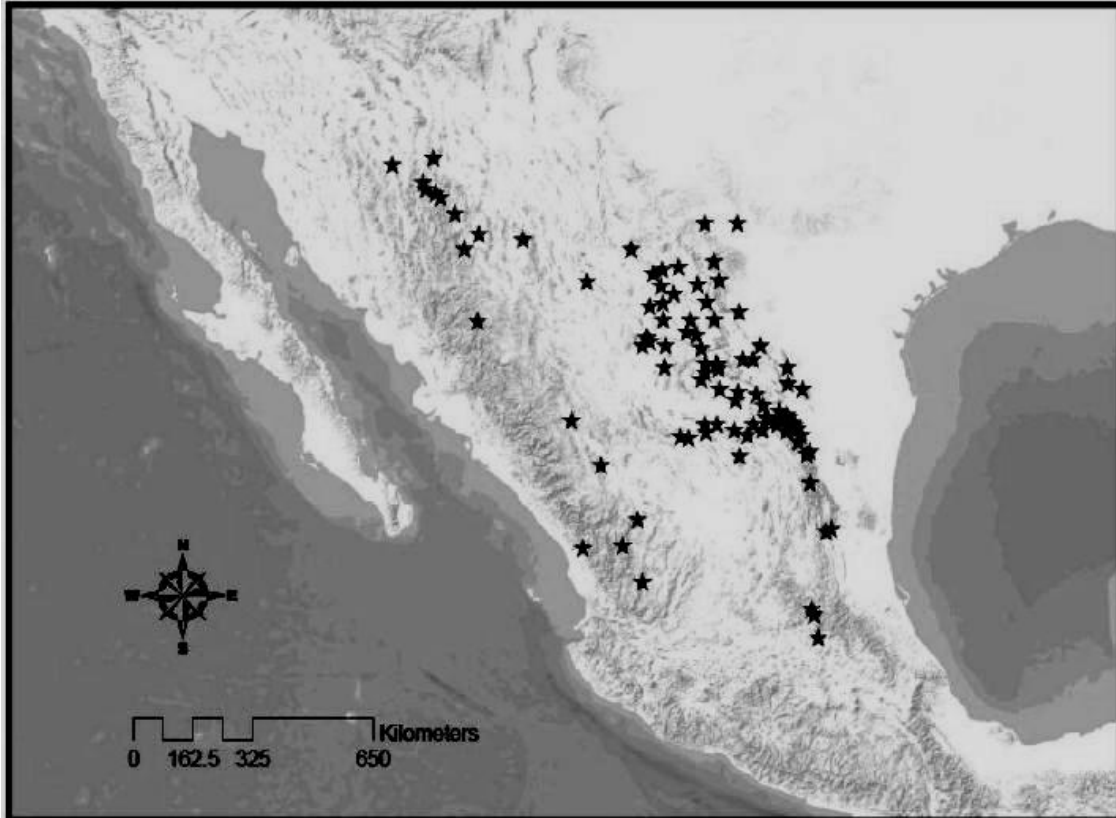
Table I. Scientific collections, locality and catalogue number of *Ursus americanus* specimens from the Sierra Madre Occidental. Data obtained from the Information Facility and the Arctos Multi-Institution-Multi-Collection-Museum Database.

Data source	Locality	Catalogue #
*Harvard University-Museum of Comparative Zoology	-Colonia García, Chihuahua	MCZ-10502
*The Academy of Natural Sciences of Philadelphia-Mammalogy Collection	-Colonia García, Chihuahua	ANSP-6881, 6882, 6883
*American Museum of Natural History (AMNH)-Vertebrate Zoology Collection	-Colonia García, Chihuahua	M-15867
*Field Museum Natural History-Mammals Collections	-Ocampo River, Durango	M-21592
	-Casas Grandes, Chihuahua	FMNH-19012, 19064, 89904
*National Museum of Natural History (NMNH), Smithsonian Institution-Vertebrate Zoology Mammals Collections	-Colonia García, Chihuahua	USNM-117100, 98321, 98322, 98325, 98326, 98329, 99338, 99665, 132195
	-San Luis Mountain, Chihuahua	USNM-177661, 177662, 177663, 177664
	-Sierra Encarnación, Chihuahua	USNM-79571
	-San Luis Mountain, Sonora	USNM-177662, 177663, 177665, 203206
*Michigan State University Museum (MSUM)	-Súchil, Durango	MR-871
*Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, UNAM	-Casas Grandes, Chihuahua	CNMA-1244
*Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Guaymas-Colección de Vertebrados	- Sierra de Huachinera, Sonora	CIAD-210801-1, 210801-2, 210801-3

Table 2. Scientific collections, locality and catalogue number of *Ursus americanus* specimens from the Sierra Madre Oriental. Data obtained from the Information Facility and the Arctos Multi-Institution-Multi-Collection-Museum Database.

Data source	Locality	Catalogue #
*Field Museum Natural History-Mammals Collections	-San Antonio del Jaral, Coahuila	FMNH -18151, 18152
*National Museum of Natural History (NMNH), Smithsonian Institution-Vertebrate Zoology Mammals Collections	-Maderas del Carmen, Coahuila	USNM -262695
	-Sierra Guadalupe, Coahuila	USNM -116952
	-Sierra Santa Rosa, Coahuila	USNM -159369
	-Múzquiz, Coahuila	USNM -157840, 158247, 159254, 159258
*Texas Cooperative Wildlife Collection (TCWC), Vertebrate Collections	-Agua salada, Coahuila	TCWC -9466
*University of Kansas Biodiversity Institute (KU), Mammal Collection	-Hacienda la Mariposa, Coahuila	KUM -57087, 57088, 57089, 57090
	-Las Margaritas, Coahuila	KUM -56517, 56518, 56519, 56520, 57091, 57818, 57819
	-Saltillo, Coahuila	KUM -35706
	-Maderas del Carmen, Coahuila	KUM -35704, 35705, 54822, 57819
	-Huachichil, Arteaga, Coahuila	CNMA -44523
*Colección Nacional de Mamíferos, Instituto de Biología, UNAM	-Zaragoza, Coahuila	CNMA -26377
*Mamíferos de Nuevo León, México (UANL)	-Rayones, Nuevo León	UANL - 2694
	-Santiago, Nuevo León	UANL -3422, 4029, 4030
*Field Museum Natural History-Mammals Collections	-San Antonio del Jaral, Coahuila	FMNH -18151, 18152
*National Museum of Natural History (NMNH), Smithsonian Institution-Vertebrate Zoology Mammals Collections	-Maderas del Carmen, Coahuila	USNM -262695
	-Sierra Guadalupe, Coahuila	USNM -116952
	-Sierra Santa Rosa, Coahuila	USNM -159369
	-Múzquiz, Coahuila	USNM -157840, 158247, 159254, 159258

Figure 4. Historical and current publish black bear presence sites in Mexico, taken from grey and publish documents used in this paper. Stars represent Universal Transverse Mercator (UTM) geographic coordinate system as indicated in original documents.



2.3.2. Status of Mexican black bear

Sonora

There are records of black bears in the mountains of the state of Sonora, Sierra San Luis (Sierra-Corona *et al.*, 2005; Varas *et al.*, 2006), Sierra Los Ajos (Lara-Díaz, 2010; Varas *et al.*, 2010), Sierra La Madera, Sierra del Tigre and Sierra San Diego (Lara-Díaz, 2010). In the Vertebrate Collection of the Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Guaymas Unit (ICAS-00-0076), there are black bear skulls from the Sierra de Huachinera (CIAD-210801-1, -2 and -3; Gallo *et al.*, 2008).

Chihuahua

There are historical records of black bears in the Sierra Madre Occidental (Anderson, 1972), which includes the northern, central, and eastern portions of the state (Leopold, 1959). During the 1970s, the Dirección General de Vida Silvestre (DGVS) confirmed the presence of black bears in isolated areas in Janos, Casas Grandes, Buena Ventura, Namiquipa, Bachíniva, Riva Palacio, Chihuahua, Cuauhtémoc, Guerrero, Gómez Farías and Madera municipalities, in the northern part of the state (DGVS, 1977).

Pacheco et al. (2000), confirmed the presence of black bears in the region of Janos-Casas Grandes, northwest of the Sierra Madre Occidental (Moctezuma-Orozco and Doan-Crider, 2005). Verdugo-Valenzuela (2005) reported the presence of black bear tracks in the Sierra El Pajarito. Sánchez-Mateo *et al.* (2007) stated the presence of black bears in Santuario Madera, Madera City. Also Moreno-Arzate (2008) reported black bear presence in Sierra del Nido. Accordingly Calderón-Domínguez (2009) confirmed the presence of black bears throughout most of the Sierra Madre Occidental, from Janos County in northwest Chihuahua to the sub-tropical forests of Sierra Tarahumara; Sierra del Nido (from Riva Palacio County to Sierra del Pajarito); Sierra de Las Tunas; and desert mountains. The Instituto Nacional de Ecología (INE/SEMARNAP, 1997) mentioned the presence of very small populations of black bears in the Sierras Hechiceros and Rica in Cañón de Santa Elena.

Sinaloa

Allen (1906) reported the only record of the genus *Ursus* in the state, and reported that Batty in 1904 purchased a bear skin from a hunter at the municipality of Escuinapa located in the south of the state; however, it was not determined whether it was from a grizzly bear (*Ursus arctos*) or American black bear (*U. americanus*). Armstrong *et al.* (1972) reported this specimen as *U. americanus* based on geographic location but the skull is being kept at the American Museum of Natural History (AMNH-24908) and labeled as *U. arctos* (Solano-Arenas, 2012).

Durango

Information regarding the presence of black bears is uncertain for the state of Durango. There are however, reports of random isolated sightings. The first report of a black bear (Allen, 1904) was from a skull from the municipality of Río Ocampo, bordering the state of Chihuahua. Leopold (1959) reported black bears in a location 50 kilometers south of the city of Durango, and in the Mezquital Indian Reservation in southern Durango. Baker and Greer (1962) reported that the black bear was uncommon in Durango and it was found only in very remote parts of the Sierra Madre Occidental, mostly in the Municipality of Mezquital. Dr. Jorge I. Servin (from the Universidad Autónoma Metropolitana unit Xochimilco) in 2004 reported two direct observations in Sierra de la Candela, Tepehuanes, and in 2005 near Canoas, Sierra del Mezquital (Delfín-Alfonso *et al.*, 2011).

Nayarit- Jalisco

Leopold (1959) reported black bears spotted by locals in Río Bolaños Basin between Nayarit and Jalisco, however, the exact locations of the records are uncertain. Baker and Greer (1962) published the only report of a possible population in northern Nayarit. Delfín-Alfonso *et al.* (2011) reported that in 2007 Mr. Lozano Vidal Melendez photographed a black bear about 4 km west of El Taiste near Huajicori, Nayarit.

Zacatecas

It has been reported that the black bears in Zacatecas are distributed in the Municipalities of Concepción del Oro and Jiménez del Teul (Matson and Baker, 1986).

Tamaulipas

Records of black bears in the state are scarce. Vargas-Contreras and Hernandez-Huerta (2001) documented the presence of black bears in the Biosphere Reserve El Cielo. Goodwin (1954) reported black bear presence in the town of Agua Linda in the Biosphere Reserve El Cielo. Medellín *et al.* (2005) validated this information; he noted that there is a reproductive active population of black bears in central Tamaulipas (S. Ledezma Pineda, pers. Communication to Doan-Crider in Medellín *et al.* 2005)

Nuevo Leon

In the early 1980's, black bear presence was reported in very low densities in 52 study areas, (11 municipalities: Allende, Aramberri, Iturbide, Linares, Montemorelos, Monterrey, Rayones, Santa Catarina, Villa Juarez, Villa de

Santiago and Zaragoza). As part of the study, ten black bears were observed and/or captured; two skins and four skulls were collected (Carrillo-Orozco, 1981; Moreno-Valdez, 1987).

In recent years, black bear numbers have increased in Nuevo Leon and direct sightings are becoming common in the state. Zepeda-González *et al.* (1997) reported that between 1988 and 1992 black bear sighting, as well as the number of tracks, scats and claw marks increased near the town of San Josecito, in southern Nuevo Leon. There is a black bear population in the Sierra de Picachos, in the north-central region of the state (Jiménez-Guzmán, 1981; Jiménez-Guzmán *et al.*, 1999; Juárez-Casillas, 2006).

Salgado-De Los Santos *et al.* (2005) confirmed the presence of 28 black bears in the Sierra "Gomas and Milpillas" (Cuenca Palo Blanco), municipality of Salinas Victoria, Nuevo Leon. Between April and August 2005, the authors obtained photographic records from motion sensors. A total of 28 black bears were identified from the 208 photographs and they found a large number of scats, tracks, and marks on trees. In 2007, the Consejo Estatal de Flora y Fauna Silvestre de Nuevo León, A. C. (CEFFSNL) and the Parques y Vida Silvestre de Nuevo León (PVSNL, Nuevo Leon Wildlife Park), landowners and holders of 54 Management Units for the Conservation and Sustainable Use of Wildlife (UMAS), participated in a Management Program: Conservation and Sustainable Use of Wildlife Cuenca Palo Blanco.

They gathered information to understand the current status of black bears in the northwest of Nuevo Leon, and to determine their distribution, home range, density, dynamics and population structure. The work is in progress and its results have not been published (CEFFSNL 2005).

Coahuila

Baker (1956) reported that black bears were distributed in most mountainous areas in the north of the state of Coahuila. He also pointed out that bears were more common in remote areas with low human density and low hunting pressure. For example, sightings of bears were common in Sierra Madera del Carmen, Sierra del Pino, Sierra de Guadalupe, and Sierra de San Marcos. Medellin *et al.* (2005) and Doan-Crider and Hellgren (1996) indicated that reproductively active populations were present in northern Coahuila. This may show that bears may be increasing their territory because, earlier Baker (1956) reported bears in low densities in some areas in the north of the state and concluded that bears may have disappeared in some northern areas, such as Sierra de los Hechiceros. This low density in some areas in the north of the state was corroborated by Contreras-Balderas *et al.* (2007) who reported no black bear sightings in Sierra de San Marcos also in the north of the state.

Since December 2005, the Environment Ministry of Coahuila (SEMARNAC, unpublished) has been collecting geographically referenced information regarding sightings of black bears in the entire state. The sighting showed that black bears are close to towns, for instance, in the city of Saltillo, bear sighting was common; a possible cause was a severe drought in the region in last

decade. The Environment Ministry (SEMARNAT) has deployed personnel to capture black bears and move them to areas where they do not disturb people or their livestock.

San Luis Potosi

In San Luis Potosi, occasional sightings have been reported, however Dalquest (1953) failed to obtain confirmation of black bears in the state, but pointed out that local newspapers reported the killing of few bears in an area close to Matehuala. Therefore it is unknown if stable populations exist. It is possible that bears observed and/or killed in the state could have been individuals wandering from Nuevo Leon and/or Tamaulipas.

Queretaro

In September 2009, the SEMARNAT confirmed the presence of black bears in the Barranca Pinal de Amoles, state of Queretaro (Newspaper Mensajero de la Sierra Gorda, 2009).

Guanajuato

Victor Ildelfonso A. (Director of the Biosphere Reserve Sierra Gorda, Guanajuato), stated that it is very likely that bears pass through the Sierra de Guanajuato between the communities of Toro and El Platanal because it forms a natural corridor in the Sótano del Barro in the municipality of Arroyo Seco, Queretaro where there have been sightings, tracks and damage to cornfields (Victor Ildelfonso A, personal communication).

Hidalgo

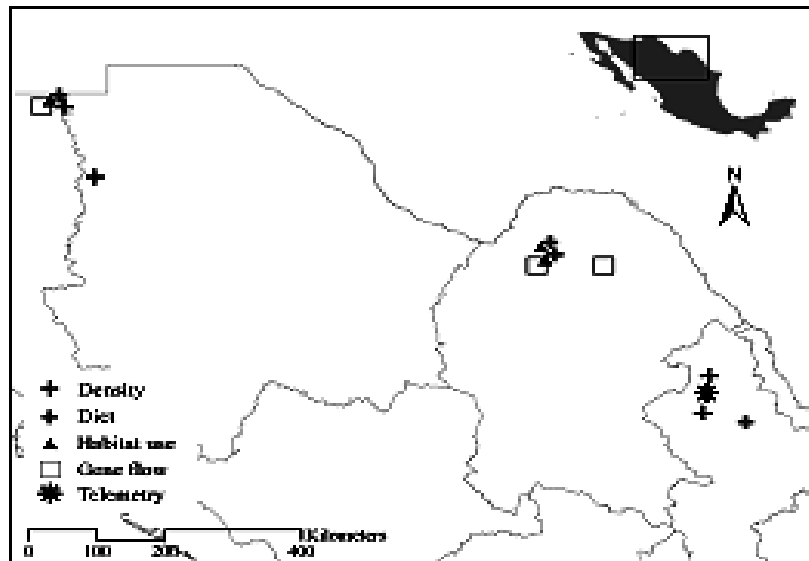
In 2005 the skeleton of an adult black bear was found in La Joya near the town of El Aguaje de Cerro Prieto in the Municipality of Misión, in the northern part of the state. The remains of this bear were housed in the Laboratorio de Ecología de Poblaciones del Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (CM-335; Rojas-Martínez and Juárez-Casillas in press).

2.3.3. Current habitat, diet, genetic structure, density and conflicts.

2.3.3.1. Habitat Research

Most of the information about black bears in Mexico is from the Sierra Madre Oriental (Fig. 5) in states of Coahuila and Nuevo Leon. Carrera-López and Canales-Gutiérrez (1985) developed a classification of habitat quality for black bear in these two states. It consisted of five categories: presence and abundance of food, such as oaks (*Quercus* sp.), surface water sources, agriculture, human population density and the presence or absence of high mountains. The results based on their analysis showed that the northern regions of Coahuila and Nuevo Leon have the best conditions for the survival of black bears in the Sierra Madre Oriental.

Figure 5. Map of Mexico where are showing the locality where black bear studies have been conducted.



Juárez-Casillas (2004) evaluated the diversity of mammals in the Ecological Park Chipinque, A.C., in the limits of the city of Monterrey in Nuevo Leon and observed an adult black bear in El Pinar. Within the park, the greatest amount of bear tracks and signs appeared to be in areas that ranged from 1080 to 1526 m.s.l.in altitude, in isolated forested areas where visitors are not allowed, and thus without anthropogenic disturbance (Abrazo del Oso, Pinar, and in Pico Lobos). Tracks have also been reported in oak and mixed oak-pine forest with low human activity (e.g., La Deslavada, El Empalme and Las Moras).

In the Sierra Madre Occidental, studies have focused mainly on habitat use. For instance Sáyago-Vázquez (2003) and Sierra-Corona *et al.* (2005) evaluated habitat selection of black bears in the Mountain range of Sierra San Luis, Sonora.

They combined scats, footprints, and photographic information gathered for two years (during the dry, rainy and post-rainy seasons) to determine vegetation type use. Sáyago-Vázquez (2004) reported 910 black bear sightings (730 for 2002 and 180 for 2003). In 2003 bears used mostly oak-pine forest, pine forest with second growth, and grassland compared with 2002 seasons, and with less use of open low chaparral forest than in 2002. Also, in 2003, during the dry season, bears showed an increased use of pine oak forest, pine forest with second growth, and grassland compared to 2002. For the rainy season there was significant increase in the use of pine forest; they also used open low forest, chaparral and pine-oak with second growth.

Verdugo-Valenzuela (2005), studied black bear habitat characteristics in the Sierra Pajarito, located northwest of the city of Chihuahua, in the Municipality of Buenaventura in Santa Mónica. The authors explored 17 sites for black bear presence. Eight sites had scats; for these sites four habitat variables, exposure, slope, altitude and vegetation type were analyzed using multivariate techniques. Altitude and vegetation type were the best variables to explain the presence of a bear ($P < 0.05$). Moreno-Arzate (2008), found that vegetation type and slope are the most important variables that influence the presence of the black bears in San Luis' and in the Sierra del Nido. Open forests are the most commonly used habitat. Other environmental variables such as vegetation, altitude and orientation also can have an effect on where black bears were found. However, no variation was found in habitat use in the Sierra San Luis where three stations were sampled (spring, summer and autumn).

2.3.3.2. Diet

In Mexican black bears, between 80 % and 97 % of the total food ingested is plant. The amount of plants ingested depends on the time of the year and the geographic locality. Only a small portion of their diet (3% to 20%) consists of animals, principally insects, such as ants and beetles. Also, black bears consume carrion across habitat quality (Carrillo-Orozco, 1981; Moreno-Valdez, 1987; Niño-Ramírez, 1989; Doan-Crider, 1995; Tavizon-García, 1998; Herrera-González, 1999; Delgadillo-Villalobos, 2001; Silva-Hurtado, 2004, Loaiza-López, H. E. 2005; Juárez-Casillas, 2006; Moreno-Arzate, 2008; López-González *et al.*, 2009; Nava-Castillo, 2011).

Diet studies in Mexico have shown that food items in black bear diet are similar across habitats. The principal food items found in spring and at the beginning of summer are herbaceous plants and acorns (*Quercus* sp.). In summer plants that predominate are the fruits of sotol (*Dasyllirion* sp.), yucca (*Yucca* sp.), acorns, junipers (*Juniperus* sp.), tunas (*Opuntia* sp.), and manzanita (*Arctostaphylos* sp.). During autumn, the principal food source is still acorns and manzanita (Carrillo-Orozco, 1981; Moreno-Valdez 1987; Niño-Ramírez, 1989; Doan-Crider, 1995; Tavizon-García, 1998; Herrera-González, 1999; Delgadillo-Villalobos, 2001; SilvaHurtado, 2004; Loaiza-López, 2005; Juárez-Casillas, 2006; Moreno-Arzate, 2008; López-González *et al.*, 2009; Nava-Castillo, 2011).

It is important to mention that when the eating habits of black bears are analyzed in the Sierra de San Luis, Sonora remains of scorpions (*Diplocentrus peloncillensis*) were found in seven scat samples, which represents the first

record of scorpions in bear diet in Mexico. Although scorpions are not a major component in black bear diet, bears seem to eat scorpions on a regular basis and this is not limited to a single black bear or family unit but is relatively common in the population in Sonora (López-González *et al.*, 2009).

2.3.3.3. Genetic structure

The use of genetic tools to evaluate the present situation of the black bear in Mexico has increased in the past 15 years. Molecular markers have made it possible to demonstrate movement between some populations of Mexico and the United States. For instance, in Texas black bears were extirpated in the 1940s, but by the 1980s, black bears were seen in Big Bend National Park, the Davis Mountains and in the east of Texas. Genetic studies showed that Texas individuals have migrated from Serranías del Burro in the north of Coahuila. They also showed that the inhospitable Chihuahuan Desert was not a geographic barrier for black bears (Onorato *et al.*, 2004). Another study showed that black bears in Arizona, black bears in the Sierra Madre Occidental, and bears in the border region between Mexico-Arizona share mitochondrial DNA haplotypes and microsatellite allele frequencies, which indicates that there has been historical, and ongoing gene flow between black bear populations in the United States and Mexico (Varas *et al.*, 2006).

2.3.3.4. Density

Carrera-López and Canales-Gutiérrez (1985) determined the density of black bears in the states of Nuevo Leon and Coahuila. They used habitat availability, information offered by locals and hunters, evidence of damages

caused by bears to agriculture or cattle, marks on the vegetation, presence of dry and fresh scat samples, tracks on transects, tracks in baited sampling sites, and direct observations of bears. The authors grouped bears in five categories (1=lowest density and 5=highest). In most of the state of Coahuila, the density was classified as type two, which means that the area has vegetation consistent with good quality black bear habitat. Bear tracks (fresh and dry excrement) and other signs of bears were present in the area, along with signs of bear damage in ranches and in farmlands in the region. The highest density was found in the Sierras de la Encantada, Santa Rosa, Maderas del Carmen. In Serrania del Burro in the north of the state, where black bear density was classified as type four, which means, that there were fresh tracks and recent direct observation of black bears. For most of Nuevo Leon, black bear density was lower (type one). Similarly, Mijangos-Araujo (2009), examined the population size of bears in Nuevo Leon, in the Municipalidad de Lampazos de Naranjo. They used three highly variable microsatellite markers, and the sex determination region (amelogenin gene). Microsatellite analysis showed high heterozygosity (70%) and a density of at least 1 bear/ km².

Doan-Crider (2003) explored black bear's habitat use in the foothills of the Burro Mountains, in the northern part of the state of Coahuila. She examined the availability of digestible energy between the years 1998 to 2001, and also, measured the reproduction, survival, and density of black bear populations in the area. Similarly she estimated the production of main food sources. Food was analyzed to quantify the content of digestible energy. Results showed a density

of 0.56 bears/km² using a modified Lincoln-Petersen model and 0.84 bears/ km² during 1998 and 2001 using a modified mark-recapture. Burro Mountains' density estimations are the highest published density for black bears in North America (Doan-Crider, 2003).

Sierra-Corona *et al.* (2005) examined black bears in the Sierra San Luis in the state of Sonora. They collected and analyzed 134 photographs (96 in 2002 and 30 in 2003) that resulted in a density of 6.9 individuals/100 km², with a minimum density during the wet season of 2.64 individual/100 km², and an intermediate density during the dry season (6 individual/100 km²). They found the highest density during the dry season (8.91 individual/100 km²) in 2002, and in 2003, they found that the overall density was lower, 4.15 individuals/100 km², with no recorded individuals during the dry season. However, Varas *et al.* (2010) using non-invasive scat collection and molecular markers found a lower density of 0.22 bears/ km² to 0.38 bears/ km² in the Pinito Ranch located in the same region of Sierra San Luis, Sonora.

2.3.3.5. Threats and Conflicts

Among the main threats facing the black bear in Mexico, habitat destruction and poaching are important when considering black bear long- term survival. Black bears move through non-habitat, such as deforested areas, farms, ranches or towns in their paths to woodlands. Low population numbers can potentially have a large effect because bears have a life expectancy and a low reproductive potential (Martínez-Castilleja, 1992), and genetic effects such as inbreeding or isolation.

They are considered a danger to farms and ranches; for example the Biosphere Reserve El Cielo, in the state of Tamaulipas, conducted a study using radio collars and photographs and showed that about 40% of the loss of corn crops was due to black bears (Carvajal-Villareal *et al.*, 2007). There is a similar situation with apple farms. In the Municipality of Arteaga, Coahuila, there are about six thousand hectares in apple production, and bears destroy a great quantity of fruit-bearing trees. The bigger farms have chosen to use air cannons that are activated at certain time intervals creating a strong racket to scare bears. They also have an electrical fence around the farm; however, bears get used to the cannons, and after a while they go back to eat the fruit. On smaller, family owned farms, farmers do not have the resources to avoid the assaults of bears, the crop is lost, and the farmers kill bears. Also, in spite of the fact that black bears eat mostly plants, bears are considered responsible for the deaths of goats and cattle in the north of Mexico.

Martínez-Muñoz (2001) devised a project to evaluate the carrying capacity for the black bear in 261.943 acres of the Maderas del Carmen mountain range, Coahuila, from June 1998 to July 1999. This project was part of an extensive study that included researchers from the Caesar Kleberg Wildlife Research Institute. Its goals were to evaluate the sociological conflicts between black bears and ranchers in Madera del Carmen, Coahuila. Results revealed that the mean carrying capacity was 0.96 bears/100 acres. The interviews of 71 farmers indicated that 26% of ranchers reported bears were harmless, while 32% reported that black bears do damages such as the destruction of water hoses

(which mostly occurring during the dry months i.e., June, July and occasionally in May). Forty two percent reported black bears as an important cattle predator. Nevertheless, while reports of depredation by black bears were high; there was no evidence of depredation of cattle in the scats, even during the months of greater food shortage (summer).

Finally, Delgadillo-Villalobos (2001) analyzed 290 scat samples in Maderas del Carmen. They determined that black bears in the study area displayed an opportunistic eating behavior. A high percentage of their diets was composed of plant items and in smaller proportion animal items. Acorns and juniper were the most important components during summer, autumn and winter.

2.4. DISCUSSION

It has been documented that black bear range in Mexico has decreased in at least 80% of their historical distribution (SEMARNAT, 2002). Black bears occurred in 11 states (Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo Leon, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, Nayarit, Aguascalientes, Sinaloa, and San Luis Potosi). The literature mentions that their current distribution is only in Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León and Tamaulipas; and that there are unconfirmed sightings in other areas in the south such as Zacatecas and San Luis Potosi (Delgadillo-Villalobos, 2011). Even though their distribution has been reduced, it seems that black bears may be increasing in numbers in some states. For example, there seems to be an increase of black bear sightings in Coahuila, Nuevo Leon, and northwestern of Chihuahua (SEMARNAC, Calderón-Domínguez, 2009).

Presence of black bears has also been confirmed in places where bears were considered gone by the early 80's; for example, in Sierra Gorda in Queretaro (Newspaper Messenger of Sierra Gorda, 2009; Victor Ildelfonso A. Director of the Biosphere Reserve, Sierra Gorda, Guanajuato). There are also current reports of black bears in places where they were never reported before, for example in northern Hidalgo (Rojas-Martínez, personal communication; Fig. 1). This is the first record for the state and it is the most southern area in the distribution. The sighting could have been of a dispersing bear from the state of Queretaro.

It is difficult to know if sighting of black bears in an area mean an established population. In many cases published black bear records do not have information about the age or sex of the individuals, which in turn does not help to understand if the individual is part of a population, or a juvenile male in the process of dispersal. It is important to have studies to confirm the presence of stable black bear populations in areas where there have been sightings by locals, such as the states of Nayarit, Jalisco, Durango, San Luis Potosi, and Zacatecas. These sightings may suggest that the black bears in Mexico are dispersing and recolonizing historical habitats.

The localities with the highest number of sightings are: Sierra de San Luis, Sonora (Sierra Madre Occidental) where black bear's maximum overall density reported is 4.15 individuals/100 km² (Sierra-Corona *et al.*, 2005). Serranías del Burro (Coahuila, Sierra Madre Oriental) with a reported density of 0.84 bears/km² (Doan-Crider, 2003).

At present, there are numerous governmental and non-governmental institutions that are working to protect black bears in Mexico. These organizations have different mandates and regulations. Therefore they work independently from each other and in some cases the result of their research are not shared or published. It is important to include theses, dissertations, manuals, reports, etc. as sources of scientific knowledge; especially in areas where peer reviewed literature is limited. These documents can be useful to find collaborators and avoid replication.

Scientific collections are also important in the study and conservation of biological diversity (Chalmers, 1992). Collections document the distribution of the target species, and are the base of taxonomic, ecological and conservation status (Ramirez, 2006). However, there are only a few black bear specimens (8) housed in four Mexican scientific collections, thus demonstrating the need for more black bear studies in Mexico and reaffirming the importance of scientific collections.

The distribution maps of black bears presented by Leopold (1959), Hall (1981), Medellín (2005) used in most published documents are not precise or need to be updated. The published literature shows that current biological knowledge of black bears in Mexico is localized in a few states; for example, in the northern part of Sonora, and in Coahuila and Nuevo Leon (Doan-Crider and Hellgren, 1996; Sierra-Corona *et al.*, 2005; Medellín *et al.* 2005, Onorato *et al.*, 2007). There is little information from other parts of Mexico. Different aspects of black bear biology have been studied in these three states, accentuating the

patchiness of black bear studies, with a concentration of knowledge in a few areas and a lack of information in others.

Black bear research in Mexico has mostly focused on detecting their current presence, followed by studies in density and then diet. More recent studies have an ecological perspective, which includes conservation of populations, population density and population genetics. Research is needed to understand ecological factors that affect the survival of black bears in Mexico. There is urgent need for more research on distribution in Mexico, and a better understanding of the life history features and the genetic characteristics of local populations, as well as habitat requirements, food habits, and the demarcation and distribution of Mexican subspecies. It is also important to understand the views of local communities towards bears. If we understand the current situation and the reasons why black bear populations have diminished in the past, we can make science based management decisions for the long-term survival of black bears in Mexico.

2.5. LITERATURE CITED

- ALLEN, J. A. 1904. Further notes on mammals from northwestern Durango. Bulletin of the American Museum of Natural History 20:205-210.
- ALLEN, J. A. 1906. Mammals from the states of Sinaloa and Jalisco, Mexico, collected by J. H. Batty during 1904 and 1905. Batty Expeditions to Mexico 1903-1906. Bulletin of the American Museum of Natural History 22:191-262.
- ANDERSON, S. 1972. Mammals of Chihuahua. Bulletin of the American Museum of Natural History 148:149-410.
- ARMSTRONG, D. M., J. KNOX JONES, JR. AND E. C. BIRNEY. 1972. Mammals from the Mexican state of Sinaloa. III. Carnivora and Artiodactyla. Journal of Mammalogy 53:48-61.
- BAKER, R. H. 1956. Mammals of Coahuila. Publications of the Museum of Natural History, University of Kansas 9:127-335.
- BAKER, R. AND J. K. GREER. 1962. Mammals of the Mexican state of Durango. Publications of the Museum Michigan State University. Biological Series 2:25-154.
- CARRILLO-OROZCO, R. 1981. Notas sobre el oso negro *U. a. eremicus*, en la Sierra Madre Oriental del Estado de Nuevo León, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León. México 45 p.

- CARRERA-LÓPEZ, J. A. AND E. CANALES-GUTIÉRREZ. 1985. Evaluación y estrategias de aprovechamiento del oso negro. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Dirección General de Flora y Fauna Silvestre. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 45 p.
- CHALMERNES, A. 1992. The role of scientific collections in the study and conservation of biodiversity. In: México ante los retos de la biodiversidad. (Sarukhán, J., and R. Dirzo, eds.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 65- 73 p.
- CARVAJAL-VILLAREAL, S. 2005. Mexico black bear pilot study initiated in Nuevo Leon using GPS collars. International Bear News 14:25.
- CONSEJO ESTATAL DE FLORA Y FAUNA SILVESTRE DE NUEVO LEÓN. 2005. Cuenca Palo Blanco. Boletín Informativo para los Propietarios de Predios, Ejidatarios, Comuneros y Pobladores de la Cuenca "Palo Blanco", Salinas Victoria, Villaldama, Bustamante y Lampazos, Nuevo León 3:1-14.
- CARVAJAL-VILLAREAL, S. AND A. LÓPEZ-VILLAREAL. 2007. Black bear (*Ursus americanus*) preliminar survey in the National Park Cumbres de Monterrey (Ejido San Antonio de la Osamenta, Santa Catarina, Nuevo León, México). 18th International Conference on Bear Research & Management. Nuevo Leon, México. 163 p.
- CONTRERAS-BALDERAS, A. J, D. J. HAFNER, J. H. LÓPEZ-SOTO, J. M. TORRES-AYALA, AND S. CONTRERAS-ARQUIETA. 2007. Mammals of the Cuatro Cienegas Basin, Coahuila, Mexico. The Southwestern Naturalist 52:400-409.

- CALDERÓN-DOMÍNGUEZ, P. A. 2009. Distribución espacio-temporal de las poblaciones de oso negro (*Ursus americanus*) en el Estado de Chihuahua. Tesis Licenciatura, Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. México, 86 p.
- DALQUEST, W. W. 1953. Mammals of the Mexican state of San Luis Potosi. Louisiana State University Studies on Biology, Science Series 1:1-229.
- DIRECCIÓN GENERAL DE VIDA SILVESTRE (DGVS). 1977. Notas sobre (*Ursus americanus*) oso negro en el estado de Chihuahua, México. 11 p.
- DOAN-CRIDER, D. L. 1995. Food habits of the Mexican black bear in Big Bend National Park, Texas, and the Serranías del Burro, Coahuila, Mexico, 1991-1994. Special Report, Big Bend National Park, Texas, EE.UU.
- DOAN-CRIDER, D. L., AND E. C. HELLGREN. 1996. Population characteristics and winter ecology of black bears in Coahuila, Mexico. Journal of Wildlife Management 60:398-407.
- DOAN-CRIDER, D. L. 2003. Movements and spatiotemporal variation in relation to food productivity and distribution, and population dynamics of the Mexican black bear in the Serranias del Burro, Coahuila, Mexico. Ph.D. Thesis, Texas A&M University-Kingsville. Texas, EE.UU.112 p.
- DELGADILLO-VILLALOBOS, J. 2001. Ecología nutricional del oso negro en la Sierra Maderas del Carmen, Coahuila, México. Tesis Maestría, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México. 96 p.

- DELFIN-ALFONSO, A. C., C. A. LÓPEZ-GONZÁLEZ, AND N. E. LARA-DÍAZ. 2011. El oso negro americano en el noroeste de México: recuperación de registros de ocurrencia. *Acta Zoológica Mexicana* 27:777-801.
- DELGADILLO-VILLALOBOS, J. 2011. Técnicas de conservación y manejo de oso negro en México. In *Temas sobre conservación de vertebrados silvestres en México*, (Sánchez, O., P. Zamorano, F. P. Recagno and H. Moya eds.). Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT, México. 311-331 p.
- ELLIOT, D. G. 1903. Descriptions of apparently new species of mammals of the genera *Heteromys* and *Ursus* from Mexico and Washington. *Field Columbian Museum Publications, Zoology Series* 3, 80:233–237.
- ESRI. 1999. Arc view GIS 3.2. Environmental Systems Research Institute, Inc. Redlands, California, EE.UU.
- ESPINOSA-FLORES M.E., N.E. LARA-DÍAZ, AND C.A. LÓPEZ-GONZÁLEZ. 2012. Tamaño poblacional del oso negro (*Ursus americanus*) en dos Islas del Cielo del Noreste de Sonora, México. *Therya* 3:403-415.
- GOODWIN, G. G. 1954. Mammals from Mexico collected by Marian Martin for the American Museum of Natural History. *American Museum Novitates* 1689:1-16.
- GALLO-REYNOSO, J. P., T. VAN DEVENDER, A. L. REINA-GUERRERO, J. EGIDO-VILLARREAL, AND E. PFEILER. 2008. Probable occurrence of a brown bear *Ursus arctos* in Sonora, Mexico, in 1976. *The Southwestern Naturalist* 53:256-260.

- HALL, E.R. 1981. The mammals of North America. John Wiley and Sons, New York, N.Y., EE.UU.1181 p.
- HERRERA-GONZÁLEZ, D. E. 1999. Ecología de la dieta del oso negro (*Ursus americanus*) en el área natural "Maderas del Carmen" en el Estado de Coahuila. Tesis Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León. México, N. L. 75 p.
- INE/SEMARNAP. 1997. Programa de manejo del área de protección de Flora y Fauna Cañón de Santa Elena, México. Instituto Nacional de Ecología-Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, Gobierno Federal, México. 115 p.
- INE/SEMARNAP. 1999. Proyecto para la conservación y manejo del oso negro (*Ursus americanus*) en México. Instituto Nacional de Ecología-Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, Gobierno Federal, México. 105 p.
- JIMÉNEZ-GUZMÁN, A. 1981. Especies en peligro y proceso de desaparición en Nuevo León, México. Boletín Informativo del Centro de Investigaciones Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León 11:5-10.
- JIMÉNEZ-GUZMÁN, A., M. A. ZUÑIGA-RAMOS, AND J. A. NIÑO-RAMÍREZ. 1999. Mamíferos de Nuevo León, México. Universidad Autónoma de México. 178 pp.

- JUÁREZ-CASILLAS, L. A. 2004. Diversidad mastofaunística del Parque Ecológico Chipinque, A. C, en el Noroeste del Estado de Nuevo León. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., México. 73 p.
- JUÁREZ-CASILLAS, L. A. 2006. Hábitos alimentarios del oso negro (*Ursus americanus*) en la Sierra de Picachos, Nuevo León México. Tesis Maestría, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México D.F., México. 55 p.
- LEOPOLD, A. S. 1959. Wildlife of Mexico. University of California Press. Davis. 568 p.
- LOAIZA-LÓPEZ, H. E. 2005. Caracterización de la dieta del oso negro (*Ursus americanus machetes*) en el noroeste de Chihuahua. Tesis Maestría, Facultad de Zootecnia, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México. 45 p.
- LÓPEZ-GONZÁLEZ, C. A., R. W. JONES, C. SILVA-HURTADO, AND I. A. SAYAGO-VÁZQUEZ. 2009. Scorpions are a food item of American black bears in Sonora, Mexico. *Western North American Naturalist* 69:131–133.
- LARA-DÍAZ, N. 2010. La comunidad de mamíferos previa a la liberación de *Canis lupus baileyi* en Sonora, México. Tesis Maestría, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México. 123 p.
- MORENO-VALDEZ, A. 1987. Determinación y distribución de los mamíferos nativos del Cañón del Huajuco, Santiago, Nuevo León, México. Tesis Licenciatura,

- Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. N. L., México. 92 p.
- MARTÍNEZ-CASTILLEJA, G. 1992. El oso negro en México: situación actual y perspectivas. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F, México. 28 p.
- MARTÍNEZ-MUÑOZ, A. 2001. Capacidad de carga para el oso negro (*Ursus americanus eremicus*) de los ecosistemas de las Serranías del Carmen Coahuila. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Proyecto Q006. 85 p.
- MEDELLÍN, R. A., C. MANTEROLA, M. VALDÉZ, D. G. HEWITT, D. DOAN-CRIDER, AND T. E. FULBRIGHT. 2005. History, ecology, and conservation of the pronghorn antelope, bighorn sheep, and black bear in Mexico. Pp. 387-404 In (Cartron, J-L. E., G. Ceballos, and R. S. Felger eds.), Biodiversity, ecosystems, and conservation in northern Mexico. Oxford University Press.
- MOCTEZUMA-OROZCO, O., AND D. L. DOAN-CRIDER. 2005. Oso negro americano. In Los Mamíferos Silvestres de México, (Ceballos, G., and G. Oliva eds.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Fondo de Cultura Económica, México. P. 419- 422.
- MESA-RAMÍREZ, D. P. 2006. Protocolo para la preservación y manejo de colecciones científicas. Boletín científico, Centro de Museos-Museo de Historia Natural 10:117-148.

- MORENO-ARZATE, C. N. 2008. Ecología conductual del oso negro (*Ursus americanus*) en la Sierra Madre Occidental. Tesis Maestría, Instituto de Ecología, A. C. Jalapa, Veracruz. Veracruz, México. 94 p.
- MENSAJERO DE LA SIERRA GORDA. 2009. Localizan Oso Negro en la Región Serrana. <http://www.mensajeroqueretaro.com/2009/09/localizan-oso-negro-en-la-region-serrana/> consultado el 15 de junio de 2012.
- MIJANGOS-ARAUJO, J. L. 2009. Estimación poblacional del oso negro americano (*Ursus americanus eremicus*) con microsatélites de ADN a partir de muestras no invasivas en Lampazos, Nuevo León. Tesis Licenciatura, Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León. México. 67 p.
- NIÑO-RAMIREZ, J. A. 1989. Análisis preliminar de la dieta de verano del oso negro (*Ursus americanus*) en la Sierra los Picachos, Higuera, Nuevo León, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México. 33 p.
- NAVA-CASTILLO, R. 2011. Nicho trófico de oso negro (*Ursus americanus eremicus*) en la Sierra de Zapalinamé, Coahuila, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, Estación Biológica Sierra de Nanchititla, Universidad Autónoma del Estado de México. México. 60 p.
- ONORATO, D. P., E. C. HELLGREN, R. A. VAN DEN BUSSCHE, AND D. L. DOAN-CRIDER. 2004. Phylogeographic patterns within a metapopulation of black bears (*Ursus americanus*) in the American Southwest. *Journal of Mammalogy* 85:140-147.

- PELTON, M. R., A. B. COLEY, T. H. EASON, D. L. DOAN MARTÍNEZ, J. A. PEDERSON, F. T. VAN MANEN, AND K. M. WEAVER. 1999. American black bear conservation action plan. Pp. 144-156. In (Servheen, C., S. Herrero, and B. Peyton eds.), Status Survey and Conservation Action Plan: Bears. World Conservation Union (IUCN), Gland, Switzerland.
- PACHECO, J., G. CEBALLOS, AND R. LIST. 2000. Los Mamíferos de la región de Janos-Casas Grandes, Chihuahua, México. Revista Mexicana de Mastozoología 4:69-83.
- PLANETA AZUL. 2011. Rescatan a cuatro crías de oso negro. http://www.planetaazul.com.mx/site/?p=8972&upm_export=print consultado el 12 de Abril de 2012.
- RAMÍREZ-PULIDO, J., A. CASTRO-CAMPILLO, J. ARROYO C, AND F. A. CERVANTES-REZA. 1996. Lista taxonómica de los mamíferos terrestres de México. Occasional Papers Museum, Texas Tech University 158:1-62.
- ROJAS-MARTÍNEZ Y JUÁREZ-CASILLAS. (In press). Primer registro de oso negro americano (*Ursus americanus*) para el estado de Hidalgo, México. Revista Mexicana de Biodiversidad.
- SÁYAGO-VÁZQUEZ, I. A. 2003. Uso de hábitat del oso negro (*Ursus americanus*) en la Sierra de San Luis Sonora México. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., México. 48 p.

- SILVA-HURTADO, C. 2004. Hábitos alimenticios del oso negro (*Ursus americanus*) en la Sierra de San Luis, Sonora, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., México. 58 p.
- SIERRA-CORONA, R., I. A. SÁYAGO-VÁZQUEZ, M. D. C. SILVA-HURTADO, AND C. A. LÓPEZ-GONZÁLEZ. 2005. Black bear abundance, habitat use, and food habits in the Sierra San Luis, Sonora, Mexico. USDA Forest Service Proceedings RMRS-P-36.
- SALGADO-DE LOS SANTOS, G., F. GONZÁLEZ-JIMÉNEZ, P. V. MORENO-CHACON, AND J. G. VILLAREALGONZÁLEZ. 2005. Situación actual de la población de oso negro *Ursus americanus eremicus* en la Sierra de Gomas y Sierra de Milpillas (Cuenca Palo Blanco), Salinas Victoria, Nuevo León, México. XXII Simposio sobre Fauna Silvestre "Gral. MV. Manuel Cabrera Valtierra". Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. 138-147 p.
- SÁNCHEZ-MATEO, M. A., R. SOTO, AND T. LEBGUE. 2007. Diversidad de aves y mamíferos en zonas donde anida *Rhynchopsitta pachyrhyncha*, en el municipio de Madera, Chihuahua, México. Revista Latinoamericana de Recursos Naturales 3:52-57.
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-2010. Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de

especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación 30 de diciembre de 2010.

SOLANO-ARENAS, J. E. 2012. Listado mastofaunístico del estado de Sinaloa. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., México. 131 p.

TAVIZON-GARCÍA, J. P. 1998. Estudio del nicho alimenticio de los mamíferos depredadores del orden Carnivora en la Sierra del Carmen, Noroeste de Coahuila, México. Tesis Maestría, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México. 66 p.

VARGAS-CONTRERAS, J. A., AND A. HERNÁNDEZ-HUERTA. 2001. Distribución altitudinal de la mastofauna en la Reserva de la Biosfera "El Cielo", Tamaulipas, México. Acta Zoológica Mexicana 82:83-109.

VERDUGO-VALENZUELA, D. 2005. Caracterización del hábitat de oso negro (*Ursus americanus machetes*) en la Sierra El Pajarito en Chihuahua, México. Tesis Maestría, Facultad de Zootecnia, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México. 59 p.

VARAS, C., C. A. LÓPEZ-GONZÁLEZ, J. RAMÍREZ. P. KRAUSMAN, AND M. CULVER. 2006. Population structure of black bears in northern México. Borders, boundaries, and time scales. In: Proceedings of the Sixth Conference on Research and Resource Management in the Southwest Deserts. In (Harvoson, B., ed.). USGS Southwest Biological Science Center, Sonoran Desert Research Station, Tucson, Arizona, EE.UU. 80-82 p.

VARAS, C. 2010. Conservation genetics of black bears in Arizona and northern México. Ph.D. dissertation, School of Natural Resources and the Environment, University of Arizona Tucson, Arizona, EE.UU. 209 p.

CAPITULO II

ANÁLISIS FILOGENÉTICO DEL LINAJE EVOLUTIVO DEL OSO NEGRO (*Ursus americanus*) DE MÉXICO

3.1. INTRODUCCIÓN

El oso negro americano (*Ursus americanus*) es el úrsido con mayor distribución en el Continente Americano (Fig. 6) y es el mayor carnívoro que se distribuye en México. No obstante, a mediados del siglo XX, este oso sufrió una dramática disminución en el número y el tamaño de sus poblaciones originales como consecuencia de las actividades antropogénicas (Servheen *et al.*, 1999).

Figura 6. Distribución histórica de las poblaciones de oso negro americano.



Gracias a la protección por parte de las leyes mexicanas, de algunos rancheros y a un cambio general en la actitud de la gente hacia este mamífero, en años recientes se ha observado un fenómeno de incremento y expansión de sus poblaciones hacia áreas de distribución histórica (Onorato *et al.*, 2004). Para asegurar la viabilidad y la permanencia de las poblaciones de oso negro en territorio mexicano, se requiere promover proyectos de conservación y mantenimiento a largo plazo para lo cual es necesario conocer cuál es la diversidad genética y entender los procesos históricos que influyeron en la estructura genética de sus poblaciones actuales.

La variabilidad genética es la materia prima de la evolución, de la cual depende la adaptación y la formación de nuevas especies por acción de la selección natural. La fragmentación del hábitat es un factor que disminuye dicha variabilidad ya que en las poblaciones pequeñas y fragmentadas presentan muy poco o nulo flujo génico (Amos y Harwood, 1998).

El oso negro, al igual que los demás carnívoros grandes, es más susceptible a la pérdida de variación genética, a causa de la fragmentación del hábitat, debido a sus amplios ámbitos hogareños y grandes tiempos generacionales (Paetkau y Strobeck, 1994).

Sin duda este aspecto es relevante para el tema de la genética de la conservación, ya que la erosión del material genético y del potencial evolutivo que esto puede representar, pone a las especies en peligro, volviéndolas incapaces de ser adaptables a los cambios ambientales (Hartl y Clark, 1989). El oso negro mexicano no es la excepción.

El mantenimiento de la variación genética incrementa la calidad de los individuos en una población. Por lo tanto, si se conocen los problemas derivados de la fragmentación del hábitat en la estructura genética de la población del oso negro y se estudia a esta especie desde el punto de vista de una metapoblación, se podrán diseñar herramientas de manejo que ayuden a su conservación.

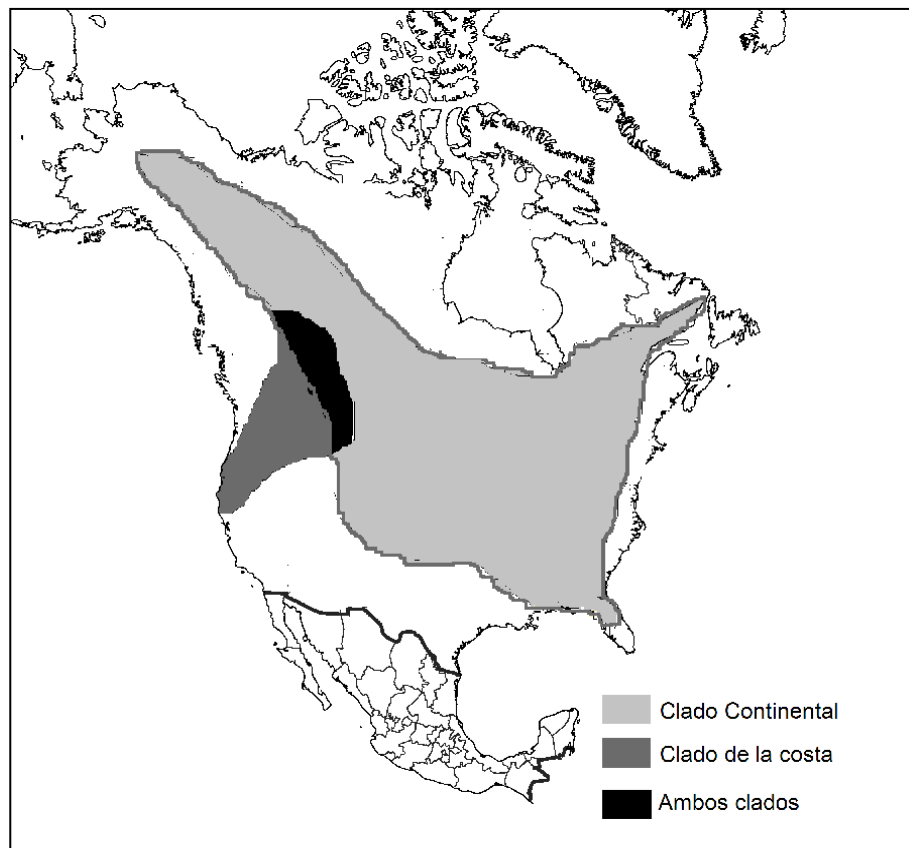
El uso de los marcadores moleculares para determinar la diversidad genética e inferir la historia evolutiva, así como la estructura de las poblaciones de oso negro americano, se ha incrementado en los últimos años (Paetkau y Strobeck, 1996; Byun *et al.*, 1997; Wooding y Ward, 1997; Stone y Cook, 2000; Onorato *et al.*, 2004), no obstante, como se manifiesta en el artículo presentado en el apéndice, en México son contados los trabajos que han estimado la variabilidad genética de algunas poblaciones de oso negro.

El uso de los marcadores genéticos han permitido estimar que el oso negro americano presenta distintos valores de diversidad genética, esto dependiendo del marcador molecular utilizado y la localización geográfica de la población estudiada (Manlove *et al.* 1980; Wathen *et al.* 1985; Paetkau y Strobeck 1994; Paetkau y Strobeck 1997; Dixon *et al.* 2007; Onorato *et al.* 2007). Pese a esto, las poblaciones mexicanas de oso negro se han mantenido al margen de estos estudios, por lo que se desconoce la situación actual de la diversidad genética que presentan.

En este mismo orden de ideas, a partir del análisis realizado con marcadores moleculares del tipo de fingerprinting, enzimas de restricción y secuencias de genes mitocondriales (región control y citocromo b), ha sido

posible inferir la presencia de dos linajes de oso negro americano en el noroeste americano. Un primer linaje se distribuye desde el sureste de Alaska hasta el norte de California y el segundo se extiende desde el interior de Alaska hacia el sur en Oregon y Nuevo México y del este de Terranova a Florida (Fig. 7; Cronin *et al.*, 1991; Paetkau y Strobeck, 1996; Byun *et al.*, 1997; Wooding y Ward, 1997; Stone y Cook, 2000). Por desgracia, en estos estudios no se incluyeron las poblaciones que se distribuyen en territorio mexicano, por lo que la historia evolutiva de este mamífero no queda del todo resuelta.

Figura 7. Distribución de los clados Continental y de la costa que presenta el oso negro americano. Modificado de Wooding y Ward (1997).



Se cree que estos linajes pudieron haber sido el resultado de los cambios climáticos presentes durante el Pleistoceno cuando Canadá estuvo prácticamente cubierta en su totalidad por hielo y las tierras colindantes más al sur presentaron un clima muy árido, trayendo como consecuencia la contracción de los bosques a dos regiones específicas, una en el Océano Pacífico y otra en el Océano Atlántico (Taylor, 2006) que pudieron haber fungido como centros de refugio para el oso negro. Una vez reducidos dichos glaciares hubo una importante reorganización en la vegetación, dándose una substitución de las áreas abiertas por bosques templados, lo que favoreció la expansión demográfica de varias especies, entre ellas el oso negro americano (Lessa *et al.*, 2003).

Como el oso negro americano es una especie que se puede desplazar grandes distancias, se sugiere que las distancias genéticas entre las poblaciones geográficamente próximas deberán ser pequeñas, así mismo se cree que las poblaciones mexicanas de oso negro quedarán insertas al linaje continental descrito por Wooding y Ward (1997), debido a que es el linaje mayormente distribuido. Por lo que los objetivos del presente trabajo fueron 1) estimar los valores de diversidad genética que presentan las poblaciones de oso negro mexicano y 2) completar la historia evolutiva del oso negro, al determinar si estas están más cercanamente relacionadas con el linaje de la costa del Pacífico o con el linaje Continental, previamente descritos por Wooding y Ward (1997).

3.2. MATERIAL Y MÉTODOS

3.2.1. Área de estudio

El área de estudio comprende prácticamente la totalidad de la distribución del oso negro americano que ocupa en la actualidad (Fig. 8).

3.2.2. Recolecta de las muestras

En México el oso negro americano es una especie protegida por las leyes federales, por lo que en este estudio se empleó un método no invasivo. Se realizaron recorridos a pie por veredas, caminos y cañadas en los sitios en donde se ha evidenciado su presencia y se colectaron todas las heces frescas encontradas (211; Sikes *et al.*, 2011). Por otro lado se solicitó la donación de una pequeña cantidad de huesos de las turbinales de la nariz de los ejemplares custodiados por colecciones científicas [uno depositado en el Laboratorio de Ecología de Poblaciones de la Universidad Autónoma de Hidalgo (CIB-CM-335), y otro resguardado dentro de la Colección Nacional de Mamíferos (CNMA 1244)], así como 10 dientes de individuos provenientes de Serranías del Burro en el Norte de Coahuila. En este mismo sentido se obtuvo por donación tejido fresco de un oso atropellado en el Municipio de Monterrey, NL y que fue rescatado por la SEMARNAT, así como de otro individuo que se encuentra albergado en la CNMA (44498).

Figura 8. Ubicación geográfica de las localidades de donde provienen las secuencias y el material colectado de oso negro (*Ursus americanus*), a lo largo de toda su área de distribución.



3.2.3. Extracción del DNA

Para extraer el DNA a partir de las heces colectadas fue necesario el empleo de un kit comercial (QiAamp DNA Stool Mini Kit, Qiagen). Las muestras de hueso fueron pulverizadas y de estas 25 mg fueron descalcificadas con EDTA (0.5M, pH 8.0) por cinco días. Posteriormente el DNA de estas muestras y de los tejidos fue extraído con el uso del kit comercial (Qiagen DNeasy tissue extraction kit).

3.2.4. Amplificación y secuenciación del DNA

La amplificación del gen de la Región Control del ADN mitocondrial se realizó usando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) a partir de 9 μ l de Green taq, 0.2 μ l de *albumina sérica bovina al 7.5%*, 0.2 μ l de CaCl_2 , 0.3 μ l de cada primer (F-CTCCACTATCAGCACCCAAAG y R-GGAGCGAGAGGTACACGT; Varas *et al.*, 2006), y 5 μ l de DNA en un volumen final de 15 μ l.

El perfil térmico tuvo una desnaturalización inicial de 94° C por tres minutos, 40 ciclos de 94°C durante 30 s, 30 s de temperatura de alineación (50° C), 72°C durante 30 s, seguido por una extensión de 72°C por 7 min. Los productos de PCR fueron genotipados utilizando tecnología de análisis de fluorescencia (ABI PRISM 3100, ADN Sequencher, Applied Biosystems).

Las secuencias se ensamblaron usando Sequencher 4.6 (Gene Codes Corporation, 2006), así mismo se realizó un Blast con las secuencias de oso negro subidas en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, para confirmar que nuestras muestras correspondían a las de un oso negro, posteriormente se alinearon nuestras secuencias forward y reverse usando el programa BioEdit (Hall, 1999).

3.2.5. Obtención de secuencias adicionales

Para este análisis aparte de nuestras secuencias generadas se incluyeron siete secuencias de la región norte del estado de Sonora, México y 10 secuencias de Arizona, Estados Unidos, proporcionadas por la Dra. Cora Varas de la Escuela de Recursos Naturales de la Universidad de Arizona. Finalmente se descargaron de GenBank 32 secuencias de la Región Control de *Ursus*

americanus, correspondientes a los haplotipos 1-19 (número de acceso de GenBank AF012305-AF012323) descritos por Wooding y Ward (1997), a los haplotipos A-E (número de acceso de GenBank AY334363-AY334367) descritos por Onorato *et al.* (2004) y a los haplotipos F-M (número de acceso de GenBank FJ619652-FJ619659) descritos por Van Den Bussche *et al.*, (2009).

3.2.6. Diversidad y estructura genética

Para detectar el polimorfismo entre las poblaciones mexicanas de oso negro, se utilizó el software DnaSP versión 5 (Librado y Rozas, 2009) con el cual se detectaron los niveles de diversidad nucleotídica (π) y diversidad haplotípica mitocondrial (h) para cada grupo (excluyendo indels). Los niveles de diferenciación poblacional (pairwise F_{ST}) y en general la diferenciación genética, se calcularon utilizando el software Arlequín versión 2.000 (Excoffier *et al.*, 2005). Para estimar las relaciones genealógicas entre las secuencias del gen mitocondrial de la Región Control se construyó una red de haplotipos usando el programa TCS (Clement *et al.*, 2000).

Para determinar la estructura genética y la diferenciación de las poblaciones mexicanas de oso negro, se realizó una prueba de varianza molecular (AMOVA). La relación entre la distancia genética y la distancia geográfica se analizó utilizando una prueba de Mantel con 10,000 permutaciones. Ambas pruebas se realizaron con Arlequín v.3.4.1.3 (Excoffier y Lischer, 2010). Se estimó una matriz de distancia genética ocupando el modelo de evolución molecular 2 parámetro de Kimura (K2P; Kimura, 1980) en el software Mega 4.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis; Tamura *et al.*,

2007). La matriz de distancia geográfica se obtuvo con el software Geographic Distance Matrix Generator v.1.2.3.

3.2.7. Análisis filogenético

Para obtener una aproximación de la historia evolutiva del oso negro americano en México, las secuencias fueron analizadas con dos diferentes aproximaciones: máxima verosimilitud e inferencia bayesiana. Para el análisis de máxima verosimilitud se realizó una búsqueda heurística utilizando el software PAUP* 4.0d10 y el modelo de sustitución de nucleótidos elegido por el software Modeltest 3.7 (Posada y Crandall, 1998) como el que mejor se ajusta a los datos. El soporte de los nodos se obtuvo por medio de los valores de bootstrap (Felsenstein, 1985).

Para el análisis de inferencia Bayesiana se utilizó el programa MrBayes 3.1.2 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003). Para seleccionar el modelo evolutivo que mejor se ajustara a nuestros datos se empleó el programa JMODELTEST 0.1.1 (Posada y Crandall, 2008). El análisis fue realizado con cuatro iteraciones de Monte Carlo (MCMC) de cadenas de Markov durante 10,000,000 generaciones con una frecuencia de muestreo de 200, resultando en 5000 árboles. Una vez terminado este análisis, se realizó una inspección visual de los valores del parámetro estimado de MCMC con TRACER 1.5 (Rambaut y Drummond, 2009), para comprobar los valores estimados de la ejecución.

Las topologías de los árboles de la Región Control fueron usadas para generar un árbol de consenso de regla de mayoría del 50% en MrBayes con un apoyo de un clado indicado como probabilidades posteriores. El árbol fue

enraizado con la secuencia de la Región Control perteneciente al panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*; número de acceso de GenBank HQ540590; Hu *et al.*, 2010); así como del oso negro asiático (*Ursus thibethanus*; número de acceso del GenBank AB013073; Matsushashi *et al.*, 1999); el oso malayo (*Ursus malayanus*; número de acceso al GenBank AB098551; Onuma *et al.*, en Prensa); el oso gris (*Ursus arctos*; número de acceso al GenBank HQ602653; Kocijan *et al.*, 2011) y el oso polar (*Ursus maritimus*; número de acceso al GenBank JF900157; Edwards *et al.*, 2011).

3.2.8. Tiempo de divergencia

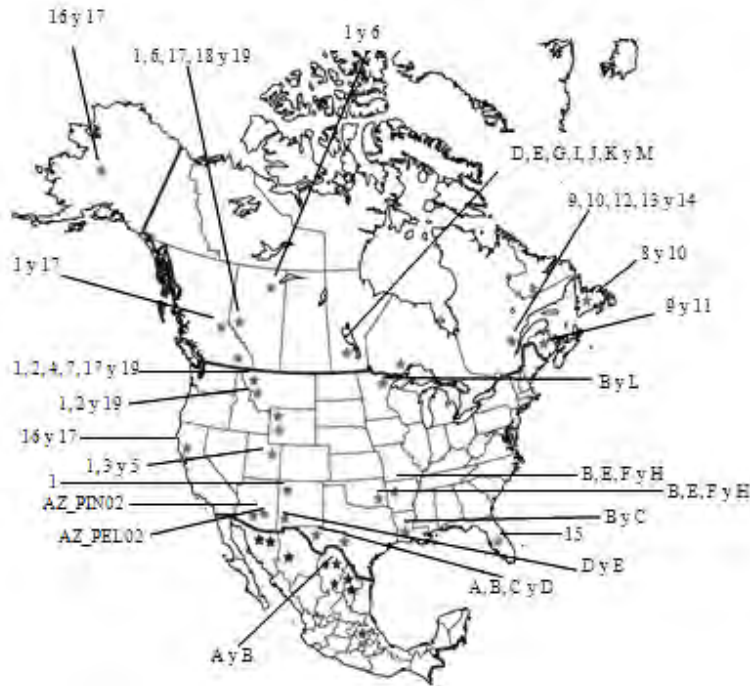
Para evaluar la divergencia de las secuencias a una escala temporal entre las poblaciones de la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre Oriental en México se utilizó el programa Beast v. 1.6.1 (Drummond *et al.*, 2007).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Diversidad y estructura genéticas

De las secuencias recuperadas de GenBank se obtuvo un total de 53 haplotipos y de la alineación de un segmento de 373 pares de bases de la Región Control del DNA mitocondrial de *Ursus americanus* en México se detectaron 26 haplotipos, de los cuales 21 corresponden a la Sierra Madre Oriental y cinco para la Sierra Madre Occidental. Por lo tanto, en total se analizaron 79 haplotipos (Fig. 9, Cuadro 3).

Figura 9. Ubicación geográfica de las haplotipos del gen Región Control del DNA mitocondrial obtenidos para el oso negro americano (*Ursus americanus*), a lo largo de toda su área de distribución actual. Los haplotipos descritos por Wooding y Ward (1997), se representan con los números 1 al 19, los descritos por Onorato *et al.* (2004) con las letras A a la E y los descritos por Van Den Bussche *et al.* (2009) con las letras F a la M. El resto son haplotipos encontrados en este estudio.



Los haplotipos D y E reportados por Onorato *et al.* (2004) para un segmento del Citocromo B y de la Región Control, corresponden a un mismo haplotipo para la Región Control, el cual coincide para esta misma zona del DNA mitocondrial con el haplotipo 1 reportado anteriormente por Wooding y Ward (1997), que se localizó en las Sierras de San Luis y Los Ajos en el norte del estado de Sonora dentro de la Sierra Madre Occidental. Los haplotipos A, B y C reportados por Onorato *et al.* (2004) también corresponden a un único haplotipo para la Región Control y coincide con el haplotipo 15 encontrado por Wooding y Ward (1997) y se localizó en la Sierra de Zapalinamé y Serranías del Burro en el estado de Coahuila sobre la Sierra Madre Oriental.

Cuadro 3. Distribución de los haplotipos de la Región Control del DNA mitocondrial obtenidos por vez primera para *Ursus americanus* en México.

	Localidad	Haplotipo
Sierra Madre Oriental	Sierra de Zapalín	Zapalín 02, Zapalín 03, Zapalín 05, Zapalín 06, Zapalín 07, Zapalín 08, Zapalín 09, Zapalín 11, Zapalín 12, Zapalín 13, A, B, C y 15
	Serranías del Burro	Burros 02, Burros 03, Burros 04, Burros 05, Burros 06, A, B, C y 15
	Sierra de Picachos	Picachos 01, Picachos 02, Picachos 03, Picachos 04, Picachos 05 y Picachos 06
	Hidalgo	Hidalgo 01
	Monterrey	Mty 01
Sierra Madre Occidental	Sierra de San Luis	San Luis 05, San Luis 07, D, E y 1
	Sierra Los Ajos	Los Ajos 01, D, E y 1
	Casas Grandes	Chihuahua 01

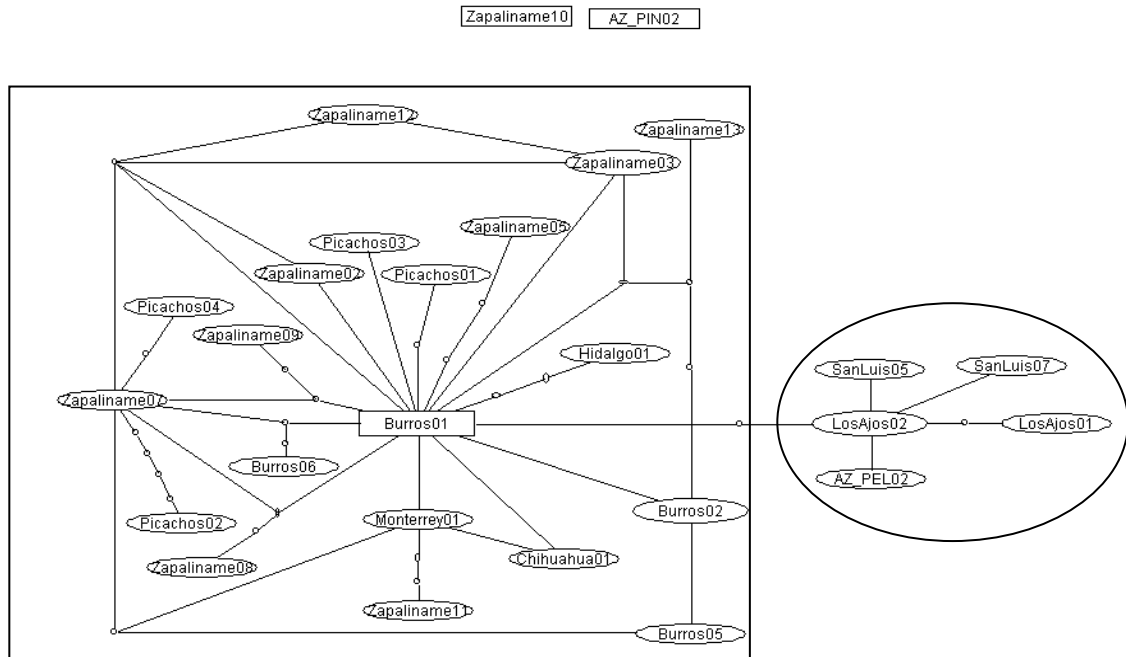
La diversidad haplotípica varió entre poblaciones, siendo altas en la Sierra de Zapalín, Sierra de Picachos y Sierra los Ajos, mientras que fue baja en la Sierra de San Luis en Sonora, y Serranías el Burro, Coahuila, México (Cuadro 4). El promedio total de h fue moderada (0.676).

Cuadro 4. Diversidad genética de las diferentes poblaciones de oso negro americano de la Sierra Madre Oriental y Sierra Madre Occidental, México. Se muestra el tamaño de muestra (N), número promedio de diferencias nucleotídicas (k), la diversidad haplotípica (h) y la diversidad nucleotídica (π).

Localidad	N	K	H	π
Sierra de Zapaliname	14	2.264	0.824	0.00898
Serranías del Burro	7	0.286	0.286	0.00128
Sierra de Picachos	4	8.167	1	0.002460
Sierra de San Luis	6	0.333	0.333	0.00108
Sierra Los Ajos	2	2.000	1	0.00647
Hidalgo	1	-	-	-
Monterrey	1	-	-	-
Casas Grandes	1	-	-	-
Total	36	4.437	0.676	0.02958

Se obtuvo una red de haplotipos (Fig. 10), la cual está dividida en dos grupos: el primero incluye los haplotipos localizados en la Sierra Madre Oriental, mientras que el segundo está alejado del primero por un solo paso mutacional y se encuentra integrado por los haplotipos encontrados en las Sierras de San Luis y Los Ajos en el estado de Sonora, así como los haplotipos localizados en Arizona, EUA.

Figura 10. Red de haplotipos para las secuencias del gen Región Control del DNA mitocondrial del oso negro americano (*Ursus americanus*). Los círculos sobre las líneas corresponden al número total de pasos mutacionales; donde no se aprecia un círculo sobre la línea, implica un solo paso. Los haplotipos que se encuentran dentro del cuadrado corresponden a los encontrados sobre la Sierra Madre Oriental, mientras que las que se incluyen dentro del círculo corresponden a la Sierra Madre Occidental.



Las distancias genéticas entre los diferentes haplotipos que se encontraron en México, mostraron que la mayor distancia se encontró entre una muestra de la Sierra de Zapalín con respecto a otra de la Sierra de Picachos (Cuadro 5). En general se observó que dos haplotipos de la Sierra de Zapalín (Zapalín 08 y Zapalín 09), muestran valores muy altos de distancia genética respecto a los demás haplotipos muestreados.

Cuadro 5. Matriz de distancias genéticas construida con los haplotipos de la Región Control de las poblaciones mexicanas de oso negro americano (*Ursus americanus*), bajo el modelo de sustitución de nucleótidos K2P. En la parte inferior se encuentran los porcentajes de divergencia genética y en la parte superior el número de diferencias entre pares de secuencias. Los valores más altos y bajos se encuentran dentro de un recuadro.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1 Zapaliname02		2	12	3	2	7	11	3	5	3	6	4	1	2	3	6	5	4	11	4	3	4	7	5	6	6
2 Zapaliname03	0.006		8	1	2	5	8	1	4	1	3	2	0	1	1	4	3	3	9	2	3	2	5	3	4	4
3 Zapaliname05	0.036	0.024		11	4	16	15	13	6	13	15	13	3	7	12	14	13	14	11	14	5	14	16	14	15	15
4 Zapaliname06	0.009	0.003	0.033		3	19	12	14	4	15	12	10	4	4	9	14	14	21	12	14	6	8	7	5	6	6
5 Zapaliname07	0.007	0.007	0.013	0.010		3	3	2	4	2	5	2	2	2	2	3	4	3	5	3	2	3	5	3	4	4
6 Zapaliname08	0.021	0.015	0.048	0.054	0.010		15	13	5	9	10	9	3	6	7	11	10	16	15	9	10	8	11	9	10	10
7 Zapaliname09	0.033	0.024	0.045	0.036	0.010	0.045		15	5	12	16	15	3	7	13	15	16	16	10	16	6	16	18	16	17	17
8 Zapaliname10	0.009	0.003	0.039	0.040	0.007	0.036	0.045		4	11	6	1	5	4	2	12	11	9	16	7	9	5	4	2	3	3
9 Zapaliname11	0.016	0.013	0.019	0.013	0.013	0.016	0.016	0.013		4	7	3	4	4	4	6	6	5	6	5	4	5	6	4	5	5
10 Zapaliname12	0.009	0.003	0.039	0.042	0.007	0.025	0.036	0.031	0.013		7	6	2	3	4	9	8	13	11	7	6	7	8	6	7	7
11 Zapaliname13	0.018	0.009	0.045	0.035	0.017	0.029	0.048	0.017	0.022	0.020		6	3	3	6	9	6	6	13	6	6	6	9	7	8	8
12 Monterrey01	0.014	0.007	0.045	0.034	0.008	0.030	0.052	0.003	0.011	0.020	0.020		1	2	3	6	5	3	9	2	3	1	5	3	4	4
13 Burros01	0.003	0.000	0.010	0.012	0.007	0.009	0.010	0.015	0.013	0.006	0.010	0.004		1	0	3	3	9	8	1	7	1	4	2	3	3
14 Burros02	0.006	0.003	0.021	0.012	0.007	0.018	0.021	0.012	0.013	0.009	0.009	0.007	0.003		1	4	4	6	12	3	6	3	5	3	4	4
15 Burros04	0.009	0.003	0.036	0.026	0.007	0.020	0.039	0.006	0.013	0.011	0.017	0.010	0.000	0.003		4	3	5	10	3	3	3	6	4	5	5
16 Burros06	0.018	0.012	0.042	0.039	0.010	0.031	0.045	0.034	0.019	0.025	0.026	0.020	0.009	0.012	0.011		8	14	14	8	8	8	9	7	8	8
17 Hidalgo01	0.015	0.009	0.039	0.040	0.013	0.028	0.048	0.031	0.019	0.022	0.017	0.017	0.009	0.012	0.009	0.022		12	13	6	10	6	8	6	7	7
18 Picachos01	0.012	0.009	0.042	0.060	0.010	0.045	0.048	0.025	0.016	0.037	0.017	0.010	0.028	0.018	0.014	0.039	0.034		18	9	10	9	5	3	4	4
19 Picachos02	0.035	0.028	0.035	0.037	0.017	0.046	0.032	0.049	0.019	0.034	0.041	0.034	0.025	0.037	0.031	0.043	0.040	0.056		13	10	13	12	10	11	11
20 Picachos03	0.012	0.006	0.042	0.040	0.010	0.025	0.048	0.019	0.016	0.019	0.017	0.007	0.003	0.009	0.009	0.022	0.017	0.025	0.040		8	2	5	3	4	4
21 Picachos04	0.009	0.009	0.016	0.018	0.007	0.031	0.019	0.028	0.013	0.018	0.019	0.011	0.022	0.019	0.009	0.024	0.031	0.031	0.031	0.024		8	6	4	5	5
22 Chihuahua01	0.012	0.006	0.042	0.023	0.010	0.023	0.048	0.014	0.016	0.020	0.018	0.003	0.003	0.009	0.009	0.023	0.017	0.026	0.040	0.006	0.025		5	3	4	4
23 LosAjos01	0.023	0.017	0.054	0.023	0.019	0.037	0.061	0.013	0.022	0.027	0.030	0.017	0.015	0.017	0.020	0.030	0.027	0.017	0.044	0.017	0.022	0.017		2	3	3
24 LosAjos02	0.017	0.010	0.047	0.017	0.012	0.030	0.054	0.007	0.015	0.020	0.023	0.010	0.007	0.010	0.013	0.023	0.020	0.010	0.036	0.010	0.014	0.010	0.007		1	1
25 SanLuis05	0.020	0.014	0.051	0.020	0.015	0.033	0.058	0.010	0.018	0.023	0.027	0.014	0.011	0.014	0.016	0.027	0.023	0.013	0.040	0.013	0.018	0.013	0.010	0.003		2
26 SanLuis07	0.020	0.014	0.051	0.020	0.015	0.033	0.058	0.010	0.018	0.023	0.027	0.014	0.011	0.014	0.016	0.027	0.023	0.013	0.040	0.013	0.018	0.013	0.010	0.003	0.007	

La segregación geográfica de las poblaciones mexicanas de oso negro puesta a prueba con el análisis AMOVA, reconoció una diferenciación entre las poblaciones situadas en la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental. La población de Arizona resultó en valores de diferenciación significativos respecto a todas las poblaciones mexicanas (Cuadro 6).

Cuadro 6. Medidas de diferenciación genética pareada entre las poblaciones de *Ursus americanus* basado en el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA). Cálculos basados en el análisis de un fragmento de 373 pb de la Región Control Mitocondrial.

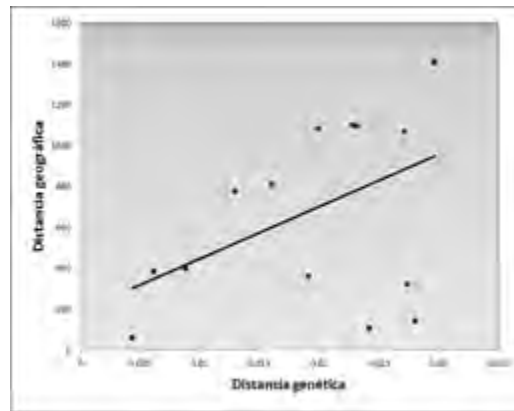
	Sierra de Zapaliname	Serranías del Burro	Sierra Picachos	Sierra de San Luis	Sierra Los Ajos	Arizona
Sierra de Zapalinamé						
Serranías del Burro	0.387+-0.043					
Sierra de Picachos	0.144+-0.041	0.576+-0.041				
Sierra de San Luis	0.00+-0.00*	0.00+-0.00*	0.009+-0.009*			
Sierra Los Ajos	0.00+-0.00*	0.036+-0.0148*	0.153+-0.033	0.423+-0.040		
Arizona	0.00+-0.00*	0.00+-0.00*	0.00+-0.00*	0.00+-0.00*	0.00+-0.00*	

* Valores FST significativos a un (p < 0.05)

El valor global de Fst fue de 0.49 significativo con una p<0.05, y también de acuerdo a la escala de Nei (1987) donde Fst>0.25 implica una alta diferenciación entre poblaciones. Se encontró que la mayor varianza en la diversidad genética, con un valor de 50.83%, está dada por las diferencias dentro de las poblaciones. El segundo componente que aporta una gran cantidad de variación, en un 47.66%, son las diferencias entre poblaciones.

La correlación entre distancia geográfica y genética fue consistente con un modelo de aislamiento por distancia ($r^2 = 0.69$, $p = 0.005$, $\alpha = 0.05$; Fig. 11).

Figura 11. Gráfico de la prueba de Mantel que muestra la pendiente y la asociación positiva entre la distribución geográfica y la distancia genética de las poblaciones de México-Arizona de oso negro americano.



3.3.2. Análisis filogenético

El modelo evolutivo que arrojó un árbol de consenso por mayoría del 50% fue el GTR+G (Figs. 12 y 13). Dentro de la topología de las poblaciones de oso negro, se encontró la presencia de dos linajes principales, uno distribuido a lo largo del Pacífico desde el norte de California hasta Arizona. El segundo linaje se encontró en el interior del continente y se dividió en dos subclados, uno "Central" donde se incluyeron los osos de la Sierra Madre Occidental México, Arizona, y las Rocallosas, Estados Unidos y otro subclado del "Este" en el que se incluyeron las poblaciones de la Sierra Madre Oriental, México, Texas, Arkansas, Minnesota y Luisiana, Estados Unidos. A partir del análisis para calcular el tiempo de divergencia entre los clados de la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre Oriental, se estimó una divergencia de 1.09 millones de años.

Figura 12. Árbol de probabilidades posteriores construido con secuencias de la Región Control del oso negro americano bajo el modelo de sustitución de nucleótidos GTR+G.

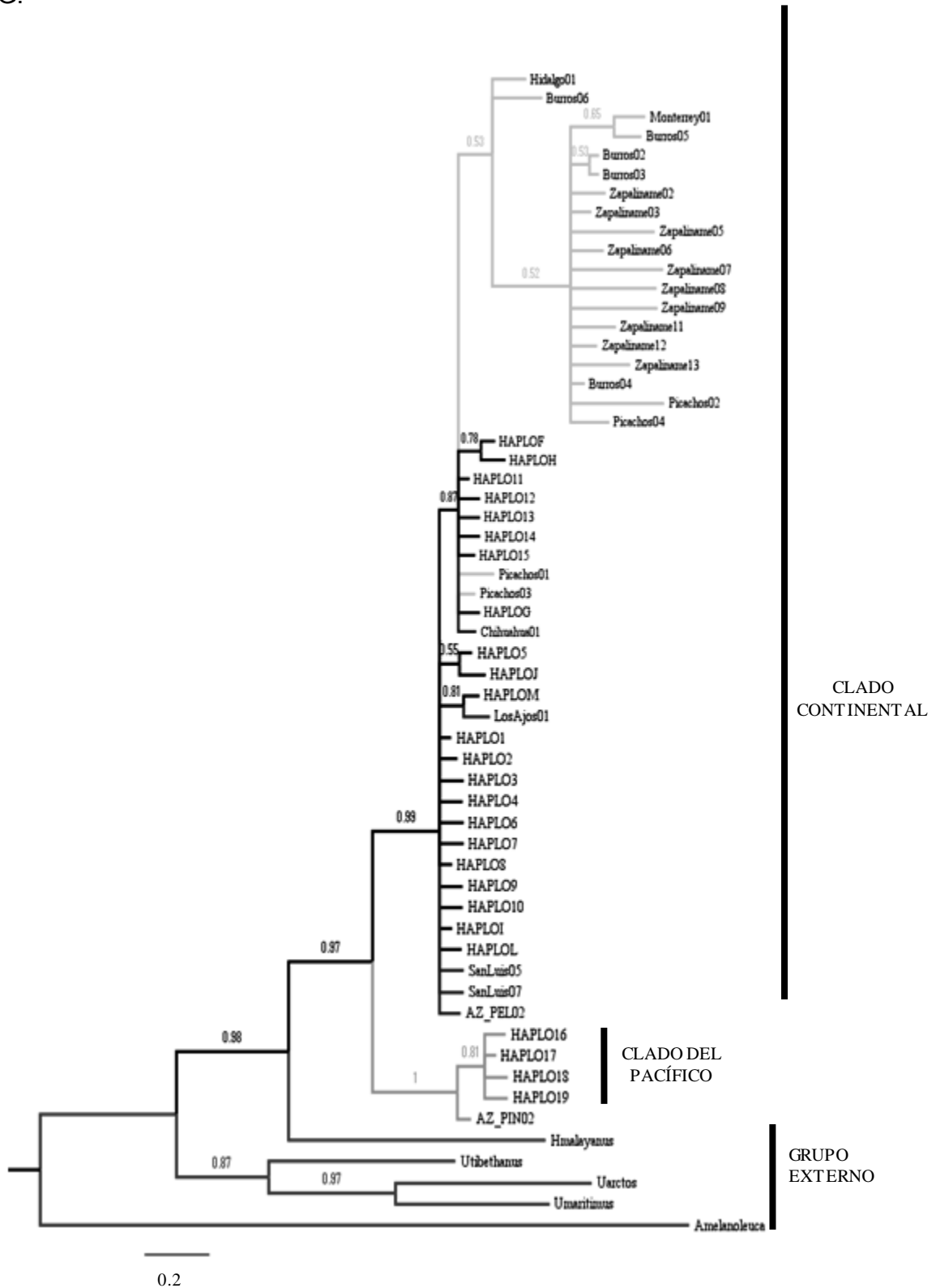
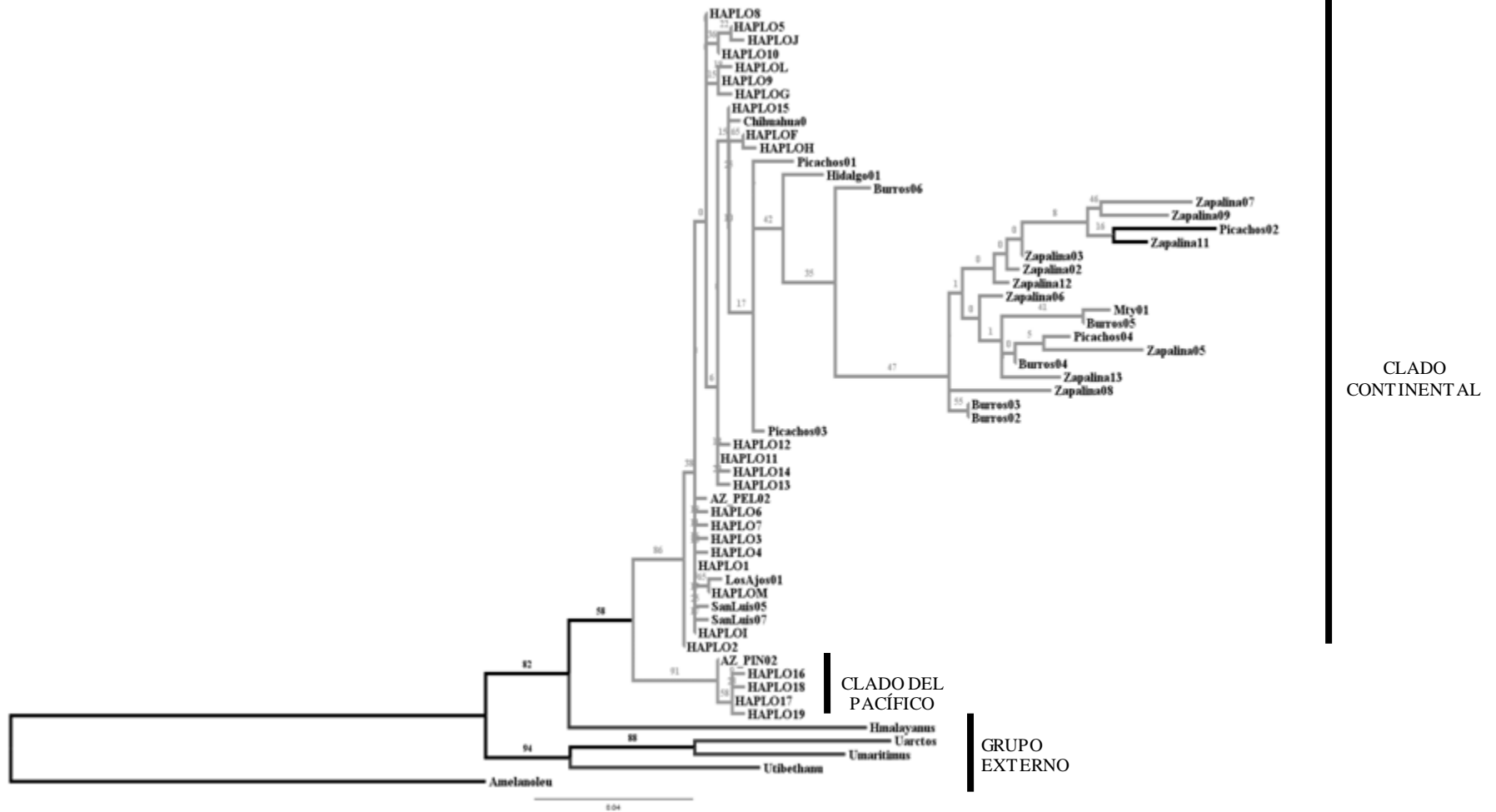


Figura 13. Árbol construido bajo el criterio de máxima verosimilitud, generado con la opción de búsqueda de branch and bound para secuencias de la Región Control del oso negro americano bajo el modelo de sustitución de nucleótidos GTR+G. Los números encima de las ramas corresponden a los valores de bootstrap (100 réplicas).



3.5. DISCUSIÓN

El muestreo del DNA fecal no invasivo es una alternativa en los estudios de biología molecular al trabajar con especies silvestres, evasivas o que se encuentren dentro de algún estatus de conservación, como es el caso de los grandes carnívoros (Maldonado, 2006). Varios estudios han presentado con éxito datos obtenidos del DNA aislado de excrementos que han demostrado una forma eficaz de obtener información sobre poblaciones animales, sin la necesidad de capturar u observar a los individuos (Wasser *et al.*, 1997; Kohn *et al.*, 1999; Ernest *et al.*, 2000). La calidad y la cantidad del DNA aislado de las heces, dependen del tiempo que transcurrió entre que fue depositada y colectada y la cantidad de sol directo, humedad, lluvia, y otras condiciones ambientales no controladas, sin embargo, se han diseñado algunos métodos de conservación de las muestras que han mostrado un efecto positivo en los resultados de extracción del DNA fecal (Wasser *et al.*, 1997; Frantzen *et al.*, 1998; Whittier *et al.*, 1999 y Murphy *et al.*, 2002).

En otro orden de ideas, se observa que dentro de la literatura existe una discordancia en las relaciones filogenéticas existentes entre oso negro americano (*Ursus americanus*), el oso negro asiático (*Ursus tibetanus*) y el oso malayo (*Ursus malayanus*). Por un lado, los resultados del análisis basado en datos de distancias genéticas usando electroforesis de proteínas de dos dimensiones sugieren que el oso malayo y el oso negro asiático son especies hermanas (Goldman y Giri, 1989), que en conjunto son especies hermanas del grupo que conforma el oso gris

(*Ursus arctos*) y el oso polar (*Ursus maritimus*; Zhang y Ryder 1994; Waits *et al.*, 1999).

Por otro lado, los resultados del análisis de marcadores nucleares sugieren que el oso negro americano está relacionado con el oso negro asiático (Talbot y Shields, 1996; Yu *et al.*, 2004; Hou *et al.*, 2007; Krause *et al.*, 2008), mientras que otros estudios analizando genes mitocondriales y nucleares han sugerido que el oso negro americano y el oso malayo divergieron como taxones hermanos (Zhang y Ryder, 1993; 1994), cuya hipótesis es apoyada en este estudio.

El análisis de las relaciones filogeográficas de las poblaciones de oso negro americano obtenidas a partir del análisis de la región control del DNA mitocondrial, confirmó la presencia de un linaje distribuido a lo largo del Pacífico y otro linaje Continental, previamente propuestos por Wooding y Ward (1997), quienes sugirieron que se originaron a partir de dos refugios pleistocénicos (norte de California y Florida). La existencia de estos refugios se sustenta a partir del registro fósil del polen que revela que aunque los bosques actuales se extienden ampliamente en toda Norteamérica, su distribución durante el pleistoceno estuvo restringida a dos pequeñas regiones, una en el Océano Pacífico y otra en el Océano Atlántico (Webb *et al.*, 1993). Así mismo, el estudio filogeográfico realizado para otras especies neárticas como el carbonero boreal (*Parus hudsonicus*), el carbonero de lomo castaño (*P. rufescens*), la Zorra gris (*Urocyon cinereargenteus*), la ardilla voladora nortea (*Glaucomys sabrinus*), la zorra roja (*Vulpes vulpes*), el ratón de cola larga (*Microtus longicaudus*), la comadreja (*Martes americana*) y la ardilla de pino amarillo (*Tamias amoenus*) presentan linajes con distribución similar a los propuestos para el oso negro americano

(Arbogast, 1999; Aubry *et al.*, 2009; Conroy y Cook, 2000; Demboski *et al.*, 1999; Demboski y Sullivan, 2003; Wooding y Ward, 1997; Christine *et al.*, 2011).

En este estudio el linaje del Pacífico se extendió más al sur de lo que había sido descrito por Wooding y Ward (1997), debido a un único haplotipo localizado en Arizona; sin embargo, su existencia no es del todo clara. Es posible que el haplotipo esté presente en Arizona pero el tamaño de la muestra fue muy pequeño que sólo se muestreo una vez o quizás los datos de colecta hayan sido equivocados ya que el tejido fue donado por un taxidermista regional.

Por otro lado el haplotipo de Casas Grandes Chihuahua en la Sierra Madre Occidental, quedo inmerso en el subclado del Este y no dentro del subclado Central como era de esperarse, por lo que es necesario aumentar el muestreo y determinar que a pesar de la distancia geográfica que existe entre la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental, existe un flujo génico entre las diferentes poblaciones a través de las islas de cielo que permiten el flujo de especies en un modelo de islas. Existen estudios que han demostrado que los osos son capaces de atravesar barreras físicas como los extensos desiertos (Onorato *et al.*, 2004; Atwood *et al.*, 2011). El estudio de la diversidad genética es imprescindible para el desarrollo de estrategias de conservación a corto y a largo plazo; más aún, para los grandes mamíferos cuya diversidad intraespecífica es generalmente baja (en promedio del 2.4%; Avise *et al.*, 1998). Por ejemplo, un estudio realizado con el lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*), subespecie de lobo gris que solo existe en cautiverio, demostró que los individuos de las poblaciones cautivas pueden entrecruzarse para aumentar su diversidad genética y evitar la consanguinidad sin que se vea comprometida su pureza (García-Moreno *et al.*, 1996).

La diversidad genética encontrada en las poblaciones mexicanas de oso negro en las poblaciones de Serranías del Burro en el norte de Coahuila y en la Sierra de San Luis en Sonora fue baja y probablemente se debió a que el tamaño de muestreo fue muy pequeño. Estos valores son comparables a los reportados para otras poblaciones de oso negro más al norte y calculadas a partir del análisis de microsatélites, como es el caso de Terranova, Canadá (36%; Paetkau y Strobeck, 1994), de Florida (27%; Dixon *et al.*, 2006), de la Isla de Kodiak en Alaska (36%; Paetkau y Strobeck, 1994) y de Mobile River Basin, Alabama (31.6%; Edwards, 2002), así como en el límite entre Alabama y Mississippi (38%-42%; Warrillow *et al.*, 2001), Estados Unidos. Por otro lado, las poblaciones de oso negro provenientes de la Sierra de Zapalinamé, Coahuila y Sierra de Picachos, Nuevo León, presentaron los mayores valores de diversidad genética (82.4%-100%), comparables con los valores reportados al sur de Quebec, suroeste de Alberta (Paetkau y Strobeck, 1994) y costa media y sureste de la Columbia Británica en Canadá (62%-81%; Woods *et al.*, 1999; Marshall y Ritland, 2002), así como en el oeste de Arkansas (72.8%; Csiki *et al.*, 2003), norte de Wisconsin ($\geq 0.77\%$; Belant *et al.*, 2005), norte de Idaho (79%; Cushman *et al.*, 2006), norte de Florida (71%; Dixon *et al.*, 2006) y costa norte de California (63%; Brown *et al.*, 2009), Estados Unidos, al igual que entre el límite de Coahuila, México y oeste de Texas, Estados Unidos (71.7%; Onorato *et al.*, 2007).

La diversidad genética presente en las poblaciones mexicanas de oso negro puede ser el resultado de la fragmentación de los ecosistemas por factores humanos, ya que en México en particular durante el siglo XX la distribución histórica del oso negro se redujo hasta en un 20% (SEMARNAT, 2010). Así

mismo, como se ha documentado para otros vertebrados (Hernández-Bolaños *et al.*, 2007), la presencia del Desierto Chihuahuense podría representar una barrera biogeográfica que restringe el flujo génico entre las poblaciones presentes en Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental, conllevando a que se fijen alelos únicos para ciertas poblaciones aisladas y a su vez se conduce a niveles más altos de diversidad genética. Dicha restricción de la migración de este úrsido entre ambas Sierras es evidente al observar que las poblaciones de oso negro de la frontera México-Texas y Sierra Madre Oriental presentan haplotipos únicos para cada Sierra, lo cual coincide con lo encontrado por la red de haplotipos que justamente distingue a los dos grupos, separados por un paso mutacional.

La prueba de Mantel corrobora la hipótesis de un flujo génico restringido, indicando una correlación concordante con el modelo de aislamiento por distancia geográfica, ya que la distribución es distinta de lo que se esperaría por azar. Sin embargo, esta interpretación debe hacerse con precaución debido a que el análisis está hecho con un solo locus, por lo que datos adicionales, como marcadores nucleares, podrían modificar nuestros resultados.

De acuerdo a los datos del reloj molecular, los sublinajes de la Sierra Madre Oriental y Sierra Madre Occidental, México, se separaron al inicio de una nueva glaciación (el Nebraskense hace 1.1 m. a.), lo que podría explicar en parte la distribución geográfica actual de los haplotipos, ya que se ha documentado que durante los periodos glaciares, en el norte de México prevaleció un decremento en la temperatura ambiental, existiendo un aumento en las lluvias, lo que produjo ambientes abiertos más templados, caso contrario a lo que sucedió durante los periodos interglaciales, donde prevaleció un aumento de la aridez de los desiertos

(Metcalfe *et al.*, 2000; Lozano-García y Vázquez-Selem, 2005; Metcalfe, 2006), sin embargo, el oso negro prefiere ambientes boscosos cerrados. Por otra parte existe información que evidencia que la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental fungieron como corredores biogeográficos con Estados Unidos durante el Pleistoceno (Ceballos, Arroyo-Cabrales y Ponce, 2010).

En cuanto a la conservación del oso negro americano en México, es difícil determinar unidades de manejo con el tamaño de muestra de este trabajo, ya que se requiere establecer la especificidad genética de los linajes, aunque es importante resaltar que la alta diferenciación encontrada entre las poblaciones y en general la alta diversidad haplotípica son indicadores de la particularidad de las mismas. Es necesario un muestreo más amplio para poder determinar si las localidades con haplotipos únicos en la Sierra Madre Oriental y Sierra Madre Occidental representan unidades evolutivas significativas (Moritz, 1994).

Por otro lado se requiere evaluar la importancia de otras barreras no naturales como el muro fronterizo entre México y Estados Unidos, para determinar el impacto que representan sobre el flujo genético y la diferenciación de las poblaciones del oso negro americano.

3.6. CONCLUSIONES

- I. Se cumplieron los objetivos específicos de:
 - Estimar los valores de diversidad genética que presentan las poblaciones de oso negro mexicano.
 - Completar la historia evolutiva del oso negro americano, al incluir las poblaciones mexicanas en un análisis filogeográfico y encontrar que estas se encuentran inmersas en el linaje continental, previamente descrito por Wooding y Ward (1997).
- II. El análisis filogenético empleando un fragmento del gen Región Control del DNA mitocondrial, apoya la hipótesis de que *Ursus americanus* y *Helarctos malayanus* divergieron como taxones hermanos.
- III. Se confirma la factibilidad de realizar estudios a cerca de una especie evasiva o en peligro de extinción sin la necesidad de manipulara gracias al uso combinado de muestreo no invasivo y la aplicación de técnicas moleculares.
- IV. El estudio del DNA extraído de excrementos representa una fuente de información de relevancia para la conservación de la fauna silvestre.

3.7. LITERATURA CITADA

- AMOS, W., Y HARWOOD, J. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 353: 177186.
- AVISE, J. C., D. WALKER Y G. C. JOHNS. 1998. Speciation durations y Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. *Proceedings of the Royal Society of London. B.* 265:1707-1712.
- ARBOGAST, B. S. 1999. Mitochondria DNA phylogeography of the new world flying squirrels (*Glaucomys*): implications for Pleistocene biogeography. *Journal of mammalogy* 80:142–155.
- AUBRY, K. B., M. J. STATHAM, B. N. SACKS, J. D. PERRINE, Y M. WISELY. 2009. Phylogeography of the North American red fox: Vicariance in Pleistocene forest refugia. *Molecular Ecology* 18:2668–2686.
- ATWOOD, T. C., J. K. YOUNG, J. P. BECKMANN, S. W. BRECK, J. FIKE, O. E. RHODES JR., Y K. D. BRISTOW. 2011. Modeling connectivity of black bears in a desert sky island archipelago. *Biological Conservation* 144:2851–2862.
- BYUN, S. A., B. F. KOOP, Y T. E. REIMCHEN. 1997. North American black bear mtDNA phylogeography: Implications for morphology and the Haida Gwaii glacial refugium controversy. *Evolution* 51:1647-1653.
- BELANT, J. L., J. F. VAN-STAPPEN, Y D. PAETKAU. 2005. American black bear population size and genetic diversity at Apostle Islands National Lakeshore. *Ursus* 16:85-92.

- BROW, S. K., J. M. HULL, D. R. UPDIKE, S. R. FAIN, Y H. B. ERNEST. 2009. Black bear population genetics in California: signatures of population structure, competitive release, and historical translocation. *Journal of Mammalogy* 90:1066–1074.
- CRONIN, M. A., S. C. AMSTRUP, G. W. GARNER Y E. R. VYSE. 1991. Interspecific and intraspecific mitochondrial DNA variation in North America bears (*Ursus*). *Can. J. Zool.* 69:2985-2992.
- CLEMENT M., D. POSADA Y K. CRANDALL. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9(10): 1657-1660
- CONROY, C. J., Y J. A. COOK. 2000. Phylogeography of a postglacial colonizer: *Microtus longicaudus* (Rodentia: Muridae). *Molecular Ecology* 9:165–175.
- CLEMENT, M., D, POSADA, Y K. A. CRANDAL. 2001. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9:1657-1659.
- CSIKI, I., C. LAM, A. KEY, E. COULTER, J. D. CLARK, R. M. PACE, K. G. SMITH Y D. D. RHOADS. 2003. Genetic variation in black bears in Arkansas and Louisiana using microsatellite DNA markers. *Journal of Mammalogy* 84:691–701.
- CUSHMAN, S. A., K. S. MCKELVEY, J. HAYDEN, Y M. K. SCHWARTZ. 2006. Gene flow in complex landscapes: testing multiple hypotheses with causal modeling. *American Naturalist* 168:486–499.
- CEBALLOS, G., J. ARROYO-CABRALES Y E. PONCE. 2010. Effects of Pleistocene environmental changes on the distribution and community structure of the mammalian fauna of Mexico. *Quaternary Research* 73:464–473.
- DEMBOSKI, J. R., K. D. STONE, Y J. A. COOK. 1999. Further perspectives on the Haida Gwaii glacial refugium. *Evolution* 53:2008–2012.

- DEMBOSKI, J. R., Y J. SULLIVAN. 2003. Extensive mtDNA variation with in the yellow-pine chipmunk, *Tamias amoenus* (Rodentia: Sciuridae), and phylogeographic inferences for northwest North America. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26:389–408.
- DIXON, J. D., M. K. OLI, M. C. WOOTEN, T. H. EASON, J. W. MCCOWN, Y D. PAETKAU. 2006. Effectiveness of a regional corridor in connecting two Florida black bear populations. *Conservation Biology* 20:155–162.
- DIXON, J. D., M. K. OLI, M. C. WOOTEN, T. H. EASON, J. W. MCCOWN, Y M. W. CUNNINGHAM. 2007. Genetic consequences of habitat fragmentation and loss: the case of the Florida black bear (*Ursus americanus floridanus*). *Conservation Genetics* 8:455-464.
- DRUMMOND, A. J Y A. RAMBAUT. 2007. Beast: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol.* 7:214
- ERNEST, H. B., M. C. T. PENEDO, B. P. MAY, M. SYVANEN, W. M. BOYCE. 2000. Molecular tracking of mountain lions in the Yosemite Valley region in California: genetic analysis using microsatellites and faecal DNA. *Molecular Ecology* 9:433-441.
- EDWARDS, A. S. 2002. Ecology of the black bear (*Ursus americanus floridanus*) in Southwestern Alabama. Tesis de Maestría, Universidad de Tennessee.
- Excoffier, L., G. Laval, y S. Schneider. 2005. Arlequinver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47–50

- EXCOFFIER, L., G. LAVAL, Y S. SCHNEIDER. 2005. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- EXCOFFIER, L. Y H. E. L. LISCHER. 2010. Arlequin suite ver.3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10:564-567.
- EDWARDS, C. J., M. A. SUCHARD, P. LEMEY, J. J. WELCH, I. BARNES, T. L. FULTON, R. BARNETT, T. C. O'CONNELL, P. COXON, N. MONAGHAN, C. E. VALDIOSERA, E. D. LORENZEN, E. WILLERSLEV, G. F. BARYSHNIKOV, A. RAMBAUT, M. G. THOMAS, D. G. BRADLEY Y B. SHAPIRO. 2011. Ancient hybridization and an Irish origin for the modern polar bear matriline . *Curr. Biol.* 21(15), 1251-1258.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791.
- FRANTZ, M. A. J., J. B. SILK, J. W. H. FERGUSON, R. K. WAYNE Y M. H. KOHN. 1998. Empirical evaluation of preservation methods for faecal DNA. *Molecular Ecology* 7:1423-1428.
- GOLDMAN D., P. R. GIRI, Y S. J. O'BRIEN. 1989. Molecular genetic-distance estimates among the Ursidae as indicated by one- and two-dimensional protein_electrophoresis. *Evolution* 43:282-295.
- GARCÍA-MORENO, J., M. D. MATOCQ, M. S. ROY, E. GEFFEN Y R. K. WAYNE. 1996. Relationships and genetic purity of the endangered Mexican wolf based on analysis of microsatellite loci. *Conservation Biology* 10:376-389.
- HARTL, D. L. Y CLARK, A. G. 1989. Principles of population genetics. Sinauer Associates (Sunderland, Mass.), pp. 682.

- HALL, T. A. 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41:95-98.
- HERNÁNDEZ-BAÑOS, B. E., M. HONEY-ESCANDÓN, M.N. CORTÉS-RODRÍGUEZ Y G. GARCÍA-DERAS. 2007. Filogeografía de aves mexicanas. En: Ecología Molecular. Eguiarte L., V. Souza & X. Aguirre (Eds) INE/Conabio, México. Pp 441-466.
- HOU, W., Y. CHEN, X. WU, J. HU, Z. PENG, J. YANG, Z. TANG, C. ZHOU, Y. LI, S. YANG, Y. DU, L. KONG, Z. REN, H. ZHANG, Y S. SHUAI. 2007. A complete mitochondrial genome sequence of Asian black bear Schuan subspecies (*Ursus thibetanus mupinensis*). International Journal of Biological Sciences 3:85-90.
- HU, Y., D. QI, H. WANG Y F. WEI. 2010. Genetic evidence of recent population contraction in the southernmost population of giant pandas. Genetic 138 (11-12), 1297-1306.
- KIMURA M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution 16:111-120.
- KOHN, M. H., E. C. YORK, D. A. KAMRADT, G. HAUGHT, R. M. SAUVAJOT Y R. K. WAYNE. 1999. Estimating population size by genotyping faeces. Proceedings of the Royal Society of London, B 266:657-663.
- KRAUSE, J., T. UNGER, A. NOCON, A. MALASPINAS, S. KOLOKOTRONIS, M. STILLER, L. SOIBELZON, H. SPRIGGS, P. H. DEAR, A. W. BRIGGS, S. C. E. BRAY, S. J. O'BRIEN, G. RABEDER, P. MATHEUS, A. COOPER, M. SLATKIN, S. PÄÄBO, Y M. HOFREITER. 2008. Mitochondrial genomes reveal an explosive radiation of extinct and

- extant bears near the Miocene-Pliocene boundary. *BMC Evolutionary Biology* 8:1-12.
- KOCIJAN, I., A. GALOV, H. CETKOVIC, J. KUSAK, T. GMERCIC Y D. HUBER. 2011. Genetic diversity of Dinaric brown bears (*Ursus arctos*) in Croatia whit implications for bear conservation in Europe. *Mamm. Biol.* 76(5), 615-621.
- LESSA, E. P., J. A. COOK, Y J. L. PATTON. 2003. Genetic footprints of demographic expansion in North America, but not Amazonia, during the Late Quaternary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:10331-10334.
- LOZANO-GARCÍA, M.S., Y L. VÁZQUEZ-SELEM. 2005. A high eleva- elevation pollen record from Iztaccíhuatl volcano, central Mexico. *The Holocene* 15 : 329-338.
- LIBRADO, P. Y J. ROZAS. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452
- MANLOVE, M. N., R. BACCUS, M. R. PELTON, M. H. SMITH, Y D. GRABER. 1980. Biochemical variation in the black bear. *Bears-their Biology and Management* 37-41.
- MORITZ, C. 1994. Defining evolutionary significant units for conservation. *Trends in Ecology and Evolution.* 9:373-375.
- MATSUHASHI, T., R. MASUDA, T. MANO, Y M. C. YOSHIDA. 1999. Microevolution of the mitochondrial DNA control region in the Japanese brown bear (*Ursus arctos*) population. *Molecular Biology and. Evolution* 16 (5), 676-684.
- METCALFE, S. E., S. L. O'HARA, M. CABALLERO-MIRANDA Y S. J. DAVIES. 2000. Records of Late Pleistocene-Holocene climatic change in Mexico: a review. *Quaternary Science Reviews* 19, 699–721.

- MARSHALL, H. D., Y K. RITLAND. 2002. Genetic diversity and differentiation of Kermode bear populations. *Molecular Ecology* 11:685-697.
- MURPHY, R. W. Y G. AGUIRRE-LEÓN. 2002. Nonavian reptiles; origins and evolution. En: A new island biogeography of the Sea of Cortés. T. J. Case, M. L. Cody, E. Ezcurra, eds. Pp. 181-220. Oxford University Press, Nueva York.
- MALDONADO, J. E. 2006. Monitoreo de especies raras y amenazadas de mamíferos utilizando análisis genéticos y muestreos no invasivos. En Vázquez-Domínguez, E y D. J. Hafner. Eds. *Genética y mamíferos mexicanos: presente y futuro*. New Mexico Museum of Natural History and Science Bulletin N°. 32. Pp. 37-44.
- METCALFE, S. 2006. Late Quaternary environments in the Northern Desert and Central Transvolcanic Belt in Mexico. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 93: 258-273.
- MALDONADO, J. E. 2006. Monitoreo de especies raras y amenazadas de mamíferos utilizando análisis genéticos y muestreos no invasivos. En: Vázquez-Domínguez, E. y D. J. Hafner, eds. *Genética y mamíferos mexicanos: presente y futuro*. New Mexico Museum of Natural History and Science Bulletin N°. 32.
- NEI, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press.
- ONORATO, D. P., E. C. HELLGREN, R. A. VAN DEN BUSSCHE, Y D. L. DOAN-CRIDER. 2004. Phylogeographic patterns within a metapopulation of black bears (*Ursus americanus*) in the American Southwest. *Journal of Mammalogy* 85:140-147.

- ONORATO, D. P., E. C. HELLGREN, R. A. VAN DEN BUSSCHE, D. L. DOAN-CRIDER, Y J. R. SKILES. 2007. Genetic structure of American black bears in the desert Southwest of North America: conservation implications for recolonization. *Conservation Genetics* 8:565-576.
- ONUMA, M., M. SUZUKI Y N. OHTAISHI. 2011. Genetic diversity of the sun bear (*Helarctos malayanus*) in Borneo based on mitochondrial DNA and microsatellite loci. Unpublished.
- PAETKAU, D. Y C. STROBECK. 1994. Microsatellite analysis of genetic variation in black bear populations. *Molecular Ecology* 3:489–495. Paetkau, D., y C. Strobeck. 1996. Mitochondrial DNA and the phylogeography of Newfoundland black bears. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 74:192-196.
- PAETKAU, D., L. WAITS, P. CLARKSON, L. CRAIGHEAD, Y C. STROBECK. 1997. An empirical evaluation of genetic distance statistics using microsatellite data from bear (Ursidae) populations. *Genetics* 147:1943–1957.
- POSADA, D. Y CRANDALL, K. A. 1998. Model test: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14(9): 817-818.
- POSADA, D. 2008. J Model Test: Phylogenetic Model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25:1253-1256.
- POLZIN, T. Y S. V. DANESHMAND. 2012. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. *Operations Research Letters* 31(1):12–2.

- ROGERS, A. R. Y H. C. HARPENDING. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution* 9:552-556. Black bears. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 74:192-196.
- RONQUIST, F., Y J. P. HUELSENBECK. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572-1574.
- RAMBAUT, A., Y A. J. DRUMMOND. 2005. Tracer: MCMC trace analysis tool. v.1.3. University of Oxford. Oxford.
<http://evolve.zoo.ox.ac.uk/software.html?id=tracer>].
- ROBINSON, S. J., L. P. WAITS, Y I. D. MARTIN. 2007. Evaluating population structure of black bears on the Kenai Peninsula using mitochondrial and nuclear DNA analyses. *Journal of Mammalogy* 88:1288-1299.
- RAMBAUT, A. Y A. J. DRUMMOND. 2009. Tracer v.1.5., disponible en <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- SERVHEEN, C., H. HERRERO Y B. PEYTON. 1999. Bears: Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Bear and Polar Bear. Specialist Groups, 306 pp.
- STONE, K. D., Y J. A. COOK. 2000. Phylogeography of black bears (*Ursus americanus*) of the Pacific Northwest. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 78:1218-1223.
- SUENAGA, E., Y H. NAKAMURA. 2005. Evaluation of three methods for effective extraction of DNA from human hair. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 820:137-141.

- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059. Protección Ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo
- SIKES, R. S., L. W. GANNON, Y THE ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE. 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy*, 92(1):235–253.
- TALBOT, S. L., Y G. F. SHIELDS. 1996. A phylogeny of the bears (Ursidae) inferred from complete sequences of three mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 5:567-575.
- TABERLET, P., L. P. WAITS, Y Y. G. LUIKART. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology and Evolution*, 14: 323-327.
- TAMURA, K., J. DUDLEY, M. NEI Y S. KUMAR. 2007. MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software versión 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24: 1596-1599.
- VARAS, C., M. CULVER, P. KRAUSMAN, J. RAMÍREZ, Y S. CUNNINGHAM. 2006. Population Genetics of the Black Bear in the Four Peaks Area, Tonto National Forest, Arizona, US. En Halvorson, B. Ed. *Borders, Boundaries and Time Scales. Proceedings of the Sixth Conference on Research and Resource Managment in the Southwest Deserts*. Pp. 80-82. Tucson, AZ.
- VAN DEN BUSSHE, R. A., J. B. LACK, D. P. ONORATO, Y L. C. GARDNER-SANTANA. 2009. Mitochondrial DNA phylogeography of black bears (*Ursus americanus*) in central and southern North America: Conservation implications. *Journal of Mammalogy* 90:1075-1082.

- WATHEN, W. G., G. F. MCCRACKEN, Y M. R. PELTON. 1985. Genetic variation in black bears from the Great Smoky Mountains National Park. *Journal of Mammalogy* 66:564-567.
- WILLIAMS, M. A. J., D. L. DUNKERLEY, P. DE DECKKER, A. P. KERSHAW, Y T. STOKES. 1993. Quaternary environments. Edward Arnold, New York.
- WEBB, T. III, P. J. BARTLEIN, S. P. HARRISON, Y K. H. ANDERSON. 1993. Vegetation, lake levels and climate in eastern North America for the last 18,000 years. Pp. 415-457 *in* H. E. Wright Jr., T. E. Kutzbach, T. Webb III, W. F. Ruddiman, F. A. Street-Perrott, and P. J. Bartlein, eds. *Global climate since the last glacial maximum*. University of Minnesota Press, Minneapolis, Minn.
- WOODING, S., Y R. WARD. 1997. Phylogeography and Pleistocene evolution in the North American black bear. *Molecular Biology and Evolution* 14:1096-1105.
- WASSER, S. K., C. S. HOUSTON, G. M. KOEHLER, G. G. CADD Y S. R. FAIN. 1997. Techniques for application of faecal DNA methods to field studies of Ursids. *Molecular Ecology* 6:1091-1097.
- WAITS, L. P., J. SULLIVAN, S. J. O'BRIEN, Y R. H. WARD. 1999. Rapid radiation events in the Family Ursidae indicated by likelihood phylogenetic estimation from multiple fragments of mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 13:82-92.
- WHITTIER, C. A., A. K. DHAR, C. STEM, J. GOODALL, Y A. ALCIVAR-WARRREN. 1999. Comparison of DNA extraction methods for PCR amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit II (COII) DNA from primate fecal samples. *Biotechnology Techniques* 13: 771-779.

WOODS, J. G., D. PAETKAU, D. LEWIS, B. N. MCLELLAN, M. PROCTOR, Y C. STROBECK.

1999. Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. *Wildlife Society Bulletin* 27:616-627.

WARRILLOW, J., M. CULVER, E. HALLERMAN, Y M. VAUGHAN. 2001. Subspecific affinity

of black bears in the White River National Wildlife Refuge. *The Journal of Heredity* 92:226-233.

YU, L., Q. W. LI, O. A. RYDER, Y Y. P. ZHANG. 2004. Phylogeny of the bears (Ursidae)

base on nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32:480-494.

ZAANG, Y. P., Y O. A. RYDER. 1993. Mitochondrial DNA sequence evolution in the

Arctoidea. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90:9557-9561.

ZAANG, Y. P., Y O. A. RYDER. 1994. Phylogenetic relationships of bears (the

Ursidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 3:351-359.

CAPITULO III

DIET OF BLACK BEAR (*Ursus americanus*) AND ITS CONSEQUENCES IN BEAR CONSERVATION IN SIERRA DE PICACHOS NUEVO LEON, MEXICO

4.1. INTRODUCTION

Black bears (*Ursus americanus eremicus*) are considered endangered in Mexico (SEMARNAT, 2010), despite their status, they are threatened by fragmentation, loss of habitat, and illegal hunting (Medellin et al., 2005). Black bears are known to feed on a wide variety of vegetation, insects and other animals (Holcrof and Herrero, 1991; Bull and Wertz, 2001). They have an opportunistic foraging behavior, and they are responding by the availability of their food sources (Pelton, 2003). Black bear diet studies in Canada (MacHutchon, 1989), the United States (Bull and Wertz, 2001; Greenleaf et. al., 2009), and Mexico (Sierra-Corona et al., 2005; Niño-Ramírez, 1989; Doan-Crider, 1995) has shown bears eating mostly plants and insects, with a lower percentage of vertebrates, from < 3% in Yukon (MacHutchon, 1989) to > 28% in the Rocky Mountain National Park (Baldwin and Bender, 2009). However, some of these studies has limited local value because bear diet could change among habitats, years, seasons and regions. Consequently, data from this study could be compared to increase the knowledge about black bear populations, their diet and their conservation.

People are beginning to occupy black bear habitat overlapping in parts of its distribution; consequently, bears are perceived as a threat to private property, crops and cattle.

Damage to private property by bears can be common in rural areas; bears become accustomed to eating trash or food left outside households (McKinney and Delgadillo, 2004). Occasionally black bears destroy beehives, gardens or private infrastructure in search of food. In some cases, ranchers attract bears inadvertently by placing artificial feeders to supplement food for deer (mostly corn or commercial foods).

Deer feeders are an attractant for bears and many of them get used to the feeders. Black bear predation on mule deer (*Odocoileus hemionus*), white tail deer (*Odocoileus virginianus*), elk (*Cervus elaphus*), moose (*Alces alces*), cattle (*Bos taurus*), and sheep (*Ovis aries*) has been documented in the United States and Canada (Murie, 1948; Smith and Follmann, 1993; Singer et al., 1997). Furthermore, black bears are considered a significant predator of calves in areas such as Alaska (Franzmann et al., 1980), Idaho, Wyoming, Alberta, and Minnesota (Schlegel, 1976; Kunkel and Mech, 1994; Horstman and Gunson, 1982).

In Mexico, Black bear's habitat overlaps with extensive cattle ranching and farmlands, which are the main source of local incomes. When bears become a nuisance, they are trapped and killed illegally to protect their cattle and crops. However, the ecological dimension of bear predation on cattle and local crops in Nuevo Leon, Mexico, has not been quantified. Knowledge of bear diet in local areas provides insight into the availability of local food items, habitat selection, and if, how much and when they feed on cattle or crops. Thus, this information will aid in the effective bears management programs in the area.

Scat analysis is a common method to study diets of large and elusive animals such as black bears (Bull and Wertz, 2001). Food items collected from scats are

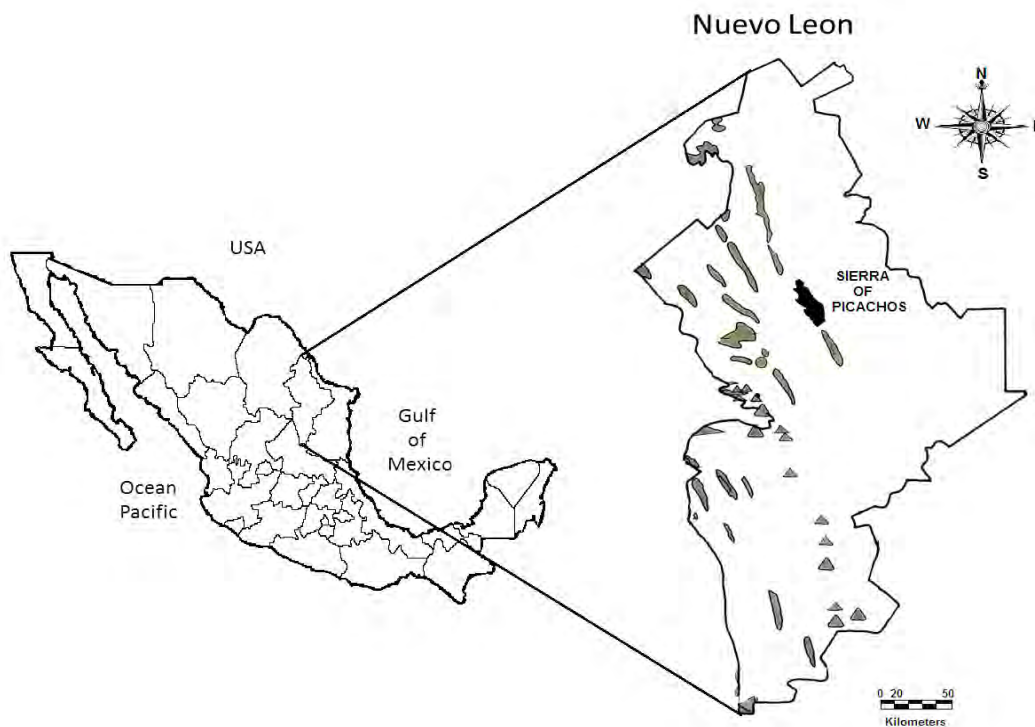
identified and related to diets through frequency, relative density, or volume (Hellgren, 1993). Our objective is to provide information on the seasonal importance of food items in the diet of black bears inhabiting the Sierra de Picachos, Nuevo Leon, Mexico.

4.2. MATERIALS AND METHODS

4.2.1. Study Area

The study area (Fig. 14), is located in the Reserve of La Mesa in the Municipality of Marin, Nuevo Leon, in the south of the Sierra de Picachos between 25°59'00'', 26° 02' 17'' north and 99° 01'20'', 99°51'30'' west. The reserve have an extension 93 km² (CONABIO, 2004).

Figure 14. Location of the study area at the state of Nuevo Leon, Mexico.



The mean annual temperature is 18°C (lower annual mean temperature is 12°C, and the high annual temperature is 22°C). The annual rain is between 500 mm -2500 mm (García, 1981). The topography is irregular and the altitude is from 400-1200 m.a.s.l. (Dirección. General de Estudios del Territorio Nacional, 1978). The soil is predominantly Litosol with secondary soils of Rendzina y Limestone Regosol (SPP, 1981). The study area included 2 types of vegetation: oak forest and sub-mountainous bushes. The dominant community in the study area is Oak forest where the genus *Quercus* is the most common (*Q. laceyi*, *Q. graciliformis*, *Q. polymorpha*, *Q. pungens*, *Q. intricata*, *Q. rugulosa*, *Q. fusiformis*, *Q. obtusata* and *Q. Clivicola*). Common plants are including also *Zanthoxylum fagara*, *Nectandra* sp., *Croton cortesianus*, *Tradescantia pringley*, *Opismenus hirtellus*, *Euphorbia* sp., *Tillandsia usneoides*, *Polipodium polipoides*, *Opuntia* sp., and *Agave* sp.

The Submontane Semidry Scrub, is characterized by trees or shrubs 4-6 feet high, with small leaves. This scrub is located on the lower slopes of the mountains. Submontane scrub species presented as representative species as *Helietta parvifolia*, *Cordia boissieri*, *Sophora secundiflora*, *Neopringlea integrifolia*, *Fraxinus greggii*, *Pithecellobium pallens*, *Leucophyllum frutescens*, *Acacia berlandieri*, *A. amantacea* y *Diospirus texana* (Ramos-Silva, 2004). In the study area, there is poaching pressure on some wildlife species (e.g., black bear and jaguarundi [*Puma yagouaroundi*]; SEMARNAT, 2002).

4.2.2. Scat Collection in the field

We collected 169 scats along roads and trails opportunistically during weekly hikes in the study area during December of 2004-November of 2005, which covered three seasons: dry season (75 samples of January to July), rainy season

(51 samples of August to October), and post-rainy season (43 samples of November to December).

Each scat was placed in individually labeled paper bags. We assigned each scat a number and recorded date and location (Universal Transverse Mercator coordinates). Scats were air dried to keep mold from growing until they were processed.

4.2.3. Scat Analysis in Laboratory

We placed the scats individually in cloth bags and washed them by water displacement until clean. We dried the samples at room temperature and after separated hair, insects, and plants manually to identify the diet components from each sample. For the identification of the plant material we created a reference collection with plants from the study area. The material was observed in a Nikon stereomicroscope using 10X magnification. We used hairs medulla patterns and cortex to identify mammal species using reference catalogues (Arita, 1985; Baca-Ibarra, 2002).

We present the results as percent occurrence (PO) and percentage of volume (PV). The PO was expressed as the number of times that appeared as a food component in the total number of feces collected (Martínez-Meyer, 1994; Hidalgo, 1998):

$$PO = (F_i/N) (100)$$

where: F_i , is the total number of scats where food component “ i ” is present and N is the total number of scats analyzed.

For each element the percentage of volume (PV) was quantified in cubic centimeters (cc) for each month and for each season. Volumes < 0.2 cc were

considered as a trace items. Percentage of volume was calculated as (Niño-Ramírez, 1989):

$$PV = (V / \sum V) (100),$$

where: "V" is the volume of the samples and " $\sum V$ " is the sum of the volume of all samples.

In order to estimate which season had the most trophic diversity (H'), we used the Shannon-Weaver index (Moreno, 2001).

$$H' = -\sum p_i \ln p_i$$

where P_i is the proportion of each items in all samples.

We used IBM SPSS Statistics 11 to run the ANOVA test and determine if the differences in the values of diversity and components among seasons were statistically significant using $P < 0.05$ (Pardo and Ruiz, 2002).

4.3. RESULTS

4.3.1. Scat Analysis

A total of eighteen different food items were identified (Table 7), of which 73.5% plants, 16.8% animals (i.e., 16.1% invertebrates, 0.7% mammals), and debris (9.8%; a possible origin of the "unidentified remains" may be part of food pellets from feeders put in the field to supplement the diet of deer and other wildlife that exist in the study area). We identified 11 food items to the species level, 1 to genus, 3 to family level, and we could not identify 3 food items. The hairs pattern of the medulla and cortex of the guard hairs found in the scat corresponded to white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and armadillo (*Dasypus novemcinctus*).

Table 7. List and percentage of occurrence of the plant and animal items present in the diet of the black bear in Sierra de Picachos, Nuevo Leon, Mexico.

	Total	Dry Season	Rainy season	Post-rainy season
Plant ítems				
<i>Quercus</i> sp.	32.54	33.33	17.65	48.84
<i>Persea pachypoda</i>	5.92	2.67	-	18.60
<i>Vitis cinérea</i>	8.88	-	23.53	6.980
<i>Opuntia engelmannii</i>	13.61	2.67	33.33	9.30
<i>Dasyilirion texanum</i>	8.88	18.67	1.96	-
<i>Chiococca pachyphylla</i>	8.28	1.33	-	30.20
<i>Zea mays</i>	1.18	1.33	1.96	-
<i>Mahonia trifoliolata</i>	0.59	1.33	-	-
<i>Diospyros texana</i>	17.16	-	50.98	6.98
<i>Forestiera racemosa</i>	4.73	-	7.84	9.30
Vegetable fibers	21.89	20	27.45	18.60
Not identified fruit	0.59	1.33	-	-
Animal ítems				
Formicidae	10.65	17.33	9.80	-
Coleoptera	15.98	9.33	21.57	20.93
Apidae	0.59	-	1.96	-
<i>Dasypus novemcinctus</i>	0.59	-	1.96	-
<i>Odocoileus virginianus</i>	0.59	-	-	2.33
Debris	16.57	37.33	-	-

4.3.2. Variation in the Percentage of Occurrence (PO) of Food Components

We identified 11 food items, 9 of them were plants, and 2 were animals during the Dry Season (January-July). Twelve food items, 8 plants, and 4 animal species during the Rainy Season (August-October). Finally 10 different food items, 8 plants, and 2 animal species during the post-Rainy Season (November-December).

The food items consumed in greatest proportion was the Texas Persimmon (*Diospyros texana*; 19.7%), followed debris, (16.2%), oak acorns (*Quercus* spp; 17.7%), thick leaf milk berry (*Chiococca pachyphylla*; 11.8%), prickly pear fruit (*Opuntia* spp; 10.1%), fiber (undigested and unidentified plant pieces; 7.5%), sotol (*Dasyllirion texanum*; 6.1%), and grapes (*Vitis cinerea*; 4.5%). Within the invertebrate items, mostly beetles (Coleoptera) were found (4.7%), ants, and bees were also found in smaller percentage as well as other food items (0.9 %). We found the remains of an armadillo and white-tailed deer in one scat sample.

4.3.3. Variation in the Percentage of Volume (PV) of Food Components

The total plant material find was 4088 cc, which accounted for 72.71% of total consumption. Animal matter was 64 cc (1.14%), and debris accounted for 1470 cc (26.15%). The 3 items with the largest PV value present were acorns (16.7%), fiber (14.76%), and Texas Persimmon (13.91%).

4.3.4. Trophic Diversity

The values of the Shannon-Weaver diversity index (H') was similar during the 3 seasons (dry = 2.32, rainy = 2.78 and post-rainy = 2.56 seasons). The ANOVA test showed no statistically significant differences in the frequency analysis in food items consumed between seasons ($p = 0.805 \pm 0.2176$).

4.4. DISCUSSION

The analysis of the scats revealed that black bear diet in the Sierra de Picachos, Nuevo Leon, Mexico is mostly herbivore, due the high level of consumption of plants, with a low percentage of non-cattle animal food items, mostly insects. These results have been consistent with previous studies in Sierra Madre Oriental (Delgadillo-Villalobos, 2001) and other studies in North America (Beeman and Pelton, 1980; Eagle and Pelton, 1983; Maehr and Brady, 1984). During this study, black bears presented a broad spectrum of food items with little variability in composition between seasons; however the percentage of different food items changes between years and localities when results are compared with other studies in Mexico and other parts of North America (Beeman and Pelton, 1980; Eagle and Pelton, 1983; Maehr and Brady, 1984; Niño-Ramírez, 1989; Doan-Crider, 1995; Delgadillo-Villalobos, 2001; Silva-Hurtado, 2004; Moreno-Arzate, 2008).

It has been reported that the diet of the black bears is correlated with seasonal fruit production of species, which mostly consumes. The high consumption of acorns is due probably to its relative abundance in the region and to its high-energy content; they are also relatively high in fat and carbohydrates; additionally contain proteins, vitamins, calcium, and phosphorus (Landers et al., 1979; Eagle and Pelton, 1983).

Fiber consumption in our study site was high compared with other food items, but lower than in other studies (Beeman and Pelton, 1980; Graber and White, 1981; Hellgren and Vaughan, 1988). Also, the consumption of debris could be

associated with the consumption of artificial food in feeders; this food is in the form of “pellets” and is commercially manufactured, or, it could be very small fragments of plant material that we did not identify). The presence of invertebrates, consisting mainly of ants and beetles, could be explained as a source of specific nutrients and amino acids that cannot be obtained from other dietary sources; they are also a rich source of nitrogen and lipids (Noyce et al., 1997). We found few bees in the scats analyzed, it seems that in our study bees may be related to the consumption of honey; however Landers et al. (1979), Maehr and Brady (1984) reported bees in stomach contents, but both studies reported larger amounts of bees than this study.

The consumption of prickly pear (*Opuntia spp*) was about 50%, higher than the percentages found by Hellgren (1993) in the Big Bend area in Texas (7 to 17%) and Doan-Crider (1995) that reported a similar percentage fruit density in scats analyzed in the foothills of the Serranias del Burro, Coahuila. Notably, thick leaf milkberry (*Chiococca pachyphylla*) is a species frequently consumed and important for black bear in the Sierra de Picachos; however, this plant species has not been reported in black bear diet for other populations. We found a small percentage of Laredo Oregon-grape (*Mahomia trifoliata*) intakes, although there was a high density of fruiting in our study area. This is the opposite, as reported by Hellgren (1993) in Big Bend National Park, where the fruit was one of the dominant food components in the diet of black bears between the months of May-June.

Bears in the Sierra de Picachos study area eat the fruit of *Persea pachypoda* but we found no support for bears eating the leaves. In contrast, Landers et al (1979) found that black bears from Southeastern North Carolina eat only leaves

and no fruits of *Persea borbonia*. Hellgren (1993) reported bears eating sotol (*Dasyilirion wheeleri*) in the study area in small amounts, similar results were presented by Silva-Hurtado (2004). The Texas persimmon (*Dyospyros texana*) was one of the most common fruits eaten by bears, the equivalent of which happens in the Big Bend National Park during the months of September and October (Doan-Crider, 1995).

For the Sierra de Picachos it has been reported that black bears have killed foals, goats, and sheep (Jiménez-Guzmán, et al., 1999); there were also reports of bears eating carrion. Our data showed that the mammals represent a small portion of bear diet; this study as well as other scat studies in the area has shown low presence (16.8%) of vertebrate remains and even lesser presence of cattle and goats (Niño-Ramírez, 1989). Animal remains in black bear diets have been reported in Canada and United States (Holcroft and Herrero, 1991; Bull et al., 2001), but many researchers believe that consumption of larger mammals is by scavenging (Zager and Beechum, 2006). In the study area, we found consumption only small amount of white tailed deer, armadillo and no cattle or goats in the diet; therefore we confirm a low presence of mammals and cannot confirm the presence of cattle or goats that as previous reports have shown.

4.5. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

The diet bear, plants were the most common food item, animals and mostly insects were the next common food items. There was no statistically significant difference among seasons. We found only small amounts of white tailed deer but it is unknown if it was taken through predation or fed upon as carrion.

Our analysis no found cattle residues in any of the scats; therefore, black bears in the study area either do not or rarely feed upon livestock. In cases that cattle predation by bears is uncertain; it should be managed by personnel trained to differentiate predation by bear, cougar, coyote and bobcat. The misidentification of livestock deaths as attributable to a black bear, usually results in unnecessary trapping and in many cases the elimination of black bears.

Another concern is presence of corn in bear diet, which warrants further monitoring given the propensity of bears to eat crops such as corn, beans and oats. Bears can break and smash corn stalks and in the process of eating the entire cob, they can damage large areas of cropland. In the Sierra de Picachos, cornfields are a significant source of income and food for local people. In Canada and United States fencing has proven to be effective in deterring bears from eating crops, and energizing fences with 3,000 volts should keep bears away and other wildlife away (Honda et al. 2009). However these fences are expensive and can be cost prohibitive and the Mexican wildlife law does not approve it. Ranchers often face the choice of comparing the cost of bears eating corn vs. the cost of implementing preventive measures, like fencing them off or hunting them. Therefore, these considerations and trade-offs need to be understood by wildlife managers and laws when developing a prevention program like translocation of conflictive bears that diminishes the illegal hunting of bears to protect crops.

Also, in the areas where black bears prey on livestock, a quantification of the level of depredation and the impacts to ranchers and farmers could allow the creation of a plan to compensate monetarily the producers for these depredation losses.

4.6. LITERATURE CITED

- ARITA, H. T. 1985. Identificación de los pelos de guardia dorsales de los mamíferos silvestres del Valle de México. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 128 p.
- BEEMAN, L. E. AND M. R. PELTON. 1980. Seasonal food and feeding ecology of black bears in the Smoky Mountains. *International Conference of Bear Research and Management* 4:141-147.
- BULL, E. AND T. L. WERTZ. 2001. The importance of vegetation, insects and Neonate Ungulates in black bear diet in Northeastern Oregon. *Northwest Science* 75:244-253.
- BACA-IBARRA, I. AND V. SÁNCHEZ-CORDERO. 2004. Catálogo de pelos de guardia dorsal en mamíferos terrestres del Estado de Oaxaca, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología* 75:383-437.
- BALDWIN, R. A. AND L. C. BENDER. 2009. Food and nutritional components of diets of black bear in Rocky Mountain National Park, Colorado. *Canadian Journal of Zoology* 87:1000-1008.
- CRAIGHEAD, J. J. AND J. S. SUMNER. 1982. Evaluation of grizzly bear food plants, food categories, and habitat. *In* A definitive system for analysis of grizzly bear habitat and other wilderness resources, J. J. Craigead, J. S. Sumner and G. B. Scaggs (eds.). Wildlife-Wildland Institute, Missoula, Montana. p. 43-84.
- CONABIO, 2004. Programa de Manejo de la Zona Sujeta a Conservación Ecológica "Cerro Picachos" Pronatura Noreste A.C.

- DIRECCIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DEL TERRITORIO NACIONAL. 1978. Carta topográfica, los nogales g14c87. escala 1:50,000. Secretaría de programación y presupuesto, México.
- DOAN-CRIDER, D. L. 1995. Food habits of the Mexican black bear, in Big Bend National Park, Texas and Serranías del Burro, Coahuila, Mexico 1991-1994. M.S. Thesis, University-Kingsville. Texas, United States of America. 39 p.
- DELGADILLO-VILLALOBOS. J. 2001. Ecología nutricional del oso negro en la Sierra Maderas del Carmen, Coahuila, México. Tesis Maestría, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. México, N.L. 96p.
- EAGLE, T. C. AND M. R. PELTON. 1983. Seasonal nutrition of black bear in the Great Smoky Mountain National Park. International Conference of Bear Research and Management 5:94-101.
- FRANZMANN, A. W., C. C. SCHWARTZ AND R. O. PETERSON. 1980. Moose calf mortality in summer on the Kenai Peninsula, Alaska. Journal of Wildlife Management 44:764–768.
- GARCÍA, E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM, México; 1-209 p.
- GRABER, D. M. AND M. WHITE. 1981. Black bear food habits in Yosemite National Park. International Conference of Bear Research and Management 5:1-10.
- GREENLEAF, S. S., S. M. MATTHEWS, R. G. WRIGHT, J. J. BEECHAM AND H. M. LEITHEAD. 2009. Food habits of American black bears as a metric for direct management of human–bear conflict in Yosemite Valley, Yosemite National Park, California. *Ursus* 20:94–101.

- HORSTMAN, L. P. AND J. R. GUNSON. 1982. Black Bear Predation on Livestock in Alberta. *Wildlife Society Bulletin* 10: 34-39.
- HELLGREN, E. C. AND M. R. VAUGHAN. 1988. Seasonal food habits of black bears in Great Dismal Swamp, Virginia-North Carolina. Proceedings Annual Conference Southeast, Association Fish and Wildlife, Agencies 42:295-305.
- HOLCROFT, A. C. AND S. HERRERO. 1991. Black bear, *Ursus americanus*, food habits in southwestern Alberta. *Canadian Field Naturalist* 105:335–345.
- HELLGREN, E. C. 1993. Status, distribution and summer food habits of black bears in Big Bend National Park. *International Conference of Bear Research and Management* 8:77-80.
- HIDALGO, M. G. 1998. Hábitos alimentarios del coyote (*Canis latrans*) en un bosque tropical caducifolio de la Costa de Jalisco, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 56 p.
- HONDA, T., Y. MIYAGAWA, H. UEDA AND M. INOUE. 2009. Effectiveness of Newly-Designed Electric Fences in Reducing Crop Damage by Medium and Large Mammals. *Mammal Study* 34:13-17.
- JIMÉNEZ-GUZMÁN, A., M. A. ZÚÑIGA-RAMOS AND J. A. NIÑO-RAMÍREZ. 1999. Mamíferos de Nuevo León, México. Universidad Autónoma de Nuevo León. México, N.L. 178 p.
- KUNKEL, K. E. AND L. D. MECH. 1994. Wolf and bear predation on white-tailed deer fawns. *Canadian Journal of Zoology* 72:1557–1565.

- LANDERS, J. L., A. S. JONSON AND R. L. MARCHINTON. 1979. Food and habitat of black bears in southeastern North Carolina. *Journal of Wildlife Management* 43:143-153.
- MURIE, A. 1948. Cattle on grizzly bear range. *Journal of Wildlife Management* 12:57-72.
- MAEHR, D. S. AND J. R. BRADY. 1984. Food habits of Florida black bears. *Journal of Wildlife Management* 48:230-235.
- MACHUTCHON, A. G. 1989. Spring and summer food habits of black bears in the Pelly River Valley, Yukon. *Northwest Science* 63(3): 116-118.
- MARTÍNEZ-MEYER, E. 1994. Hábitos de alimentación del Lince (*Lynx rufus*) en la Sierra del Ajusco, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 65 p.
- MORENO, C. 2001. Manual de métodos para medir la biodiversidad. Textos Universitarios, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz. 81 p.
- Medellín, R. A., C. MANTEROLA, M. VALDÉZ, S. G. HEWITT, D. DOAN-CRIDER AND T. E. FULLBRIGHT. 2005. History, Ecology and Conservation of the Pronghorn Antelope, Bighorn Sheep and Black bear in Mexico. *In* Biodiversity, ecosystems, and conservation in northern Mexico, J. E. Cartron, G. Ceballos, R. S. Felger (eds.). Oxford University Press. p 387-404.
- NIÑO-RAMÍREZ, J. 1989. Análisis preliminar de la dieta de verano del oso negro (*Ursus americanus*), en la Sierra Los Picachos, Higueras, Nuevo León, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. México, N.L. 33p.

- NOYCE, K. V., P. B. KANNOVSKI AND M. R. RIGGS. 1997. Black bears as ant-eaters: seasonal associations between bear myrmecophagy and ant ecology in north-central Minnesota. *Canadian Journal of Zoology* 75:1671-1686.
- PARDO, A. AND M. A. RUIZ. 2002. SPSS 11. Guía para el análisis de datos. McGraw-Hill, Madrid, España. 714 p.
- PELTON, M. R. 2003. Black bear. *In* Wild mammals of North America: biology, management, and conservation, G.A. Feldhamer, and J.A. Chapman (eds.). The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland. p. 547–555.
- RAMOS-SILVA, C. 2004. Florística y etnobotánica de la vertiente norte de la Sierra de Picachos, Nuevo León, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, México. México, N.L. 56 p.
- SCHLEGEL, M. 1976. Factors affecting calf elk survival in north central Idaho. A Progress Report. Proceedings of the Annual Conference of Western Association of State Fish and Game Commissioners 56:342–355.
- SPP. 1981. Síntesis Geográfica de Nuevo León. Secretaría de Programación y Presupuesto, México, D. F.
- SMITH, M. E. AND E. H. FOLLMANN. 1993. Black bear denning ecology in interior Alaska. *International Conference of Wildlife Management* 46:845–859.
- SINGER, F. J., A. HARTING, K. K. SYMONDS AND M. B. COUGHENOUR. 1997. Density dependence, compensation, and environmental effects on elk calf mortality in Yellowstone National Park. *Journal of Wildlife Management* 61:12–25.
- SEMARNAT. 2002. Programa de Manejo de la Zona Sujeta a Conservación Ecológica Cerro Picachos, Nuevo León. SEMARNAT, México. 78 p.

- SILVA-HURTADO, C. 2004. Hábitos alimenticios del oso negro (*Ursus americanus*) en la Sierra de San Luis, Sonora, México. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 56.
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059. Protección Ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. SEMARNAT, México. 77 p.
- ZAGER, P. AND J. BEECHAM. 2006. The role of American black bears and brown bears as predators on ungulates in North America. *Ursus* 17:95–108.

DISCUSIÓN Y RECOMENDACIONES

Los patrones de distribución de los mamíferos del mundo han dejado claro que México ocupa el tercer lugar entre los países con mayor diversidad biológica y en particular ocupa el segundo lugar con más mamíferos en su territorio, albergando alrededor del 12% de las especies actuales (Ceballos *et al.*, 2002).

No obstante, las actividades antropogénicas han provocado la extinción de 15 mamíferos en los últimos dos siglos (Ehrlich y Ceballos, 1997). Un claro ejemplo de estas extinciones es el caso del oso gris (*Ursus arctos*), que fue el mayor carnívoro que se distribuyó en territorio nacional hasta mediados del siglo XX, como consecuencia de su cacería furtiva y la destrucción de su hábitat (Brown, 1985). En este mismo orden de ideas, el oso negro americano (*Ursus americanus*), es una especie que sufrió una dramática reducción en su área de distribución, por lo que fue catalogado por las leyes mexicanas como una especie en peligro de extinción (SEMARNAT, 2010). Actualmente se desconoce con exactitud cuál es su situación, debido a que la información sobre su biología se encuentra dispersa y en su mayoría en literatura gris, de aquí la importancia que tiene este trabajo y en particular el capítulo dos en donde se compiló gran parte de los estudios realizados para esta especie en nuestro país, y de acuerdo a su análisis se sugiere sea cuidadosamente revaluada su situación actual, así como su estado de conservación, ya que se ha evidenciado que existen numerosos registros, esto principalmente sobre la Sierra Madre Oriental en donde se han enfocado la mayoría de los estudios e incluso se han encontrado avistamientos más allá de su distribución histórica (Rojas-Martínez y Juárez-Casillas, en prensa).

Una de las cuestiones fundamentales de la biología de la conservación es el identificar unidades de conservación, por ello, en el proceso de la identificación de estas unidades se debe tener clara la división de la diversidad biológica en dos componentes: aquella resultante del aislamiento histórico y aquella que tiene que ver con la evolución adaptativa (Moritz, 2002; Vázquez-Domínguez, 2002, 2007).

El entender los aspectos históricos de la conectividad y diferenciación genética entre las poblaciones de oso negro en toda su área de distribución es primordial para proponer programas de manejo y conservación para la especie, pero este entendimiento es confuso debido a la escases de estudios moleculares y a la falta de documentación del proceso de expansión que presenta el oso negro en México, por lo que este trabajo adquiere una mayor relevancia, debido a que se provee una perspectiva temporal y espacial de las poblaciones de este mamífero en territorio nacional.

En este sentido, Doadrio *et al.* (1996) acuñaron el concepto de Unidad Operativa de conservación (OCU por sus siglas en inglés), el cual se define como un área continua limitada por fronteras geográficas bien definidas y habitada por una o más poblaciones que comparten el mismo patrón genético.

Es importante mencionar que el uso exclusivo de datos moleculares para definir las estrategias de conservación dentro de una especie puede ser altamente arriesgado, por lo que este conocimiento debe ser cuidadosamente evaluado junto con datos históricos, ecológicos, sociales y de distribución, con la finalidad de obtener una perspectiva más acertada y realista (Crandall *et al.*, 2000).

Por lo que en este estudio se valoró parte de los requerimientos del hábitat, específicamente la dieta, la cual es primordial para la conservación de la especie,

ya que la calidad del hábitat y su capacidad para proveer alimento en las diferentes estaciones del año son factores que afectan la dinámica poblacional de la fauna silvestre, esto debido a que se relacionan con la reproducción, la supervivencia de las crías (Costello *et al.*, 2003) y de manera secundaria a las migraciones (Landers *et al.*, 1979), agresiones, organización social (Onorato *et al.*, 2004), e indica el impacto del depredador sobre las poblaciones de sus presas. Por lo que los estudios sobre los hábitos alimentarios son una herramienta importante para encontrar criterios acertados en el manejo de la fauna silvestre en general.

Dentro del área de distribución de las poblaciones mexicanas de oso negro, se encuentran varias Áreas Naturales Protegidas (ANP) que cuentan con su respectivo Programa de Manejo, adecuado a las características físicas, biológicas y sociales del sitio. Entre las ANP que cuentan con el reporte de alguna población de oso negro, se encuentran el Área de Protección de Flora y Fauna “Maderas del Carmen”, en el estado de Coahuila (Mckinney y Delgadillo-Villalobos, 2007); la Zona Protectora Forestal “Sierra San Luis” en el estado de Sonora (Sierra-Corona *et al.*, 2005); el Área de Protección de Flora y Fauna “Cañón de Santa Elena” en Chihuahua (Carabias-Lillo *et al.*, 1997); la Reserva de la Biosfera “Sierra Gorda” en Querétaro (CONANP, 2009); y el Parque Nacional “Cumbres de Monterrey” en Nuevo León (Carvajal-Villarreal y López-Villarreal, 2007). Sin embargo, como lo refleja la literatura existente, se desconoce la situación actual que guardan las poblaciones de oso negro en toda su área de distribución.

En vista, a lo fragmentado y disperso que se encuentra el conocimiento de las poblaciones mexicanas de oso negro y aunado al incremento y expansión que se ha observado en los últimos años por parte de dicho animal, es necesario la recolecta de datos de campo para confirmar la presencia del oso negro, dentro de su área de distribución histórica o en nuevas áreas, por lo que es primordial involucrar de manera más comprometida a instituciones tanto gubernamentales como no gubernamentales, principalmente a las Universidades.

Una vez determinadas las áreas de presencia de oso negro, se requeriría determinar aquellas localidades que cuentan con poblaciones estables de este mamífero, para lo cual es necesario hacer estudios poblacionales como el que se realizó en Serranías del Burro en el norte de Coahuila (Doan-Crider, 1995) y en la Sierra San Luis, en el norte de Sonora (Silva-Hurtado, 2004), en donde se determinará los hábitos alimentarios y se realizó una estimación poblacional, siendo la población de oso negro de Serranías del Burro una de las más altas de Norteamérica.

En aquellos sitios en donde compruebe la presencia de poblaciones estables de oso negro, se requerirá de trabajo de campo para ampliar el conocimiento sobre los principales componentes de la dieta del oso negro, además se deberá evaluar las variables como la disponibilidad, la frecuencia y la densidad de consumo y preferencias alimentarias, debido a que uno de los factores más importantes para la conservación de este mamífero en su ambiente natural es la calidad del hábitat y su capacidad para proveer alimento en las diferentes estaciones del año, ya que esta disponibilidad de alimento se vincula directamente con la velocidad de crecimiento de la población, debido principalmente a que esta

afecta la reproducción y sobrevivencia de las crías en los primeros años de vida (Costello *et al.*, 2003) y, de manera secundaria afecta los movimientos (Landers *et al.*, 1979; Garshelis y Pelton, 1981), agresiones y organización social (Onorato *et al.*, 2004).

Los estudios sobre los hábitos alimentarios del oso en México (Herrera-González, 1999; Delgadillo-Villalobos, 2001; Silva-Hurtado, 2004; Moreno-Arzate, 2008) se han limitado a descripciones de los componentes alimentarios, dejando de lado el valor nutrimental de los componentes de la dieta y su productividad con los requerimientos del oso, por lo que es necesario estimar el valor energético de las especies vegetales para los osos negros.

Con la información generada a partir de los hábitos alimentarios, se podrá hacer trabajo de restauración ecológica, en los sitios en donde sea requerido, introduciendo especies nativas de plantas de las cuales se alimente el oso negro, según el área estudiada. De esta manera se tratará de evitar que los osos negros bajen a las áreas donde existe ganado o cultivos agrícolas y reducir los conflictos que pudieran existir entre los osos y los pobladores locales.

Gracias a los estudios antes mencionados, será posible estimar la capacidad de carga, lo que nos ayudará a conocer el número máximo de animales que puede soportar un ecosistema dado.

Deberá implementarse un plan de control o erradicación de especies herbívoras, que sean exóticas o que se hayan convertido en plaga, y que no cuenten con explotación alguna, ya que los impactos negativos de estas especies introducidas e invasoras son perjudiciales tanto para la fauna como para la flora local.

Por ejemplo se reportó que en la Isla de Anticosti, Quebec, Canadá, la extinción de la población de oso negro se debió a la introducción del venado de cola blanca (*Odocoileus virginianus*), el cual en ausencia de depredadores, aumentó exponencialmente su población, acabando con los recursos de los cuales hacia uso el oso negro y a pesar de que esta especie presenta un amplio espectro trófico no pudo sobrevivir a la escases de alimento, llevándolo a su extinción (Côté, 2005).

Debido a la pérdida de muchos de los ecosistemas mexicanos por efecto de la destrucción del hábitat y a la cacería furtiva a la que fueron sometidas las poblaciones de oso negro, esta especie han sido extirpada en varias partes de su distribución original, lo que ha fragmentado a las poblaciones, provocando una posible disminución de la diversidad genética como consecuencia del poco o nulo flujo génico que existe entre dichas poblaciones, como ha ocurrido en otras partes de su distribución geográfica (Amos y Harwood, 1998), por lo que es necesario evaluar la diversidad genética de las poblaciones mexicanas de oso negro.

Sin duda este aspecto es relevante para el tema de la genética de la conservación, ya que la erosión del material genético y del potencial evolutivo que esto puede representar, pone a las especies en peligro, volviéndolas incapaces de ser adaptables a los cambios ambientales (Hartl y Clark, 1989).

Sí se conocen los problemas derivados de la fragmentación del hábitat en la estructura genética de las poblaciones del oso negro y se estudia a esta especie desde el punto de vista de una metapoblación, se podrán diseñar rutas de migración que puedan mitigar los efectos negativos de la fragmentación del hábitat por restablecer o mantener la conectividad entre las poblaciones desconectadas,

como se ha reportado para dos poblaciones que habían estado desconectadas en Florida y que actualmente mantienen un flujo continuo entre dos grandes poblaciones (Dixón *et al.*, 2006).

Por otra parte, se ha documentado que existe un intercambio genético entre algunas poblaciones de México y Estados Unidos. En Texas el oso negro había sido extirpado en su totalidad en los años 40, sin embargo, para principios de los 80, se habían restablecidos poblaciones en el Parque Nacional Big Bend, en las Davis Mountain y el Este de Texas, a partir de individuos provenientes de las Serranías del Burro en el norte de Coahuila (Onorato *et al.*, 2004).

Un segundo reporte indica que las poblaciones de oso negro de las Montañas Rocallosas del norte, en Arizona, Estados Unidos y la región fronteriza entre México-Arizona al norte de la Sierra Madre Occidental (Sonora) vienen de una misma línea, lo que indica que existe un flujo génico entre las poblaciones de los dos países (Varas-Nelson *et al.*, 2007). Esto significaría que hay por lo menos dos linajes diferentes de oso negro cruzando en la frontera entre México y Estados Unidos, por lo que es imperante que el Gobierno Mexicano tome acciones más enérgicas en contra de la construcción de un muro fronterizo entre México y Estado Unidos, ya que las acciones de la actual administración estadounidense podrían acabar con este movimiento en ambos sentidos, que es vital para la supervivencia del oso negro.

Una vez estimado el censo poblacional, la capacidad de carga y estructura genética de las poblaciones de oso negro, debería analizarse la probabilidad, de translocar osos negros a áreas de su distribución histórica, en donde las poblaciones sean muy pequeñas o hayan sido erradicadas.

Debe considerarse que la translocación de grandes carnívoros como es el caso del oso negro, podría afectar negativamente a los residentes de las zonas de liberación por la creciente competencia por los alimentos, por lo que es requerido hacer un estudio a detalle de la capacidad de carga de las nuevas áreas a translocar, además de evaluar los efectos de competencia y depredación.

Otro de los parámetros a considerar durante la translocación, es que los osos suelen dejar las zonas nuevas de liberación en pocos días y se mueven tratando de volver a su hábitat original, por lo que debe analizar el impacto negativo que tenga hacia las poblaciones humanas cercanas, y de esta manera tomar la decisión de liberar o no osos en estas nuevas regiones.

Las translocaciones, podrían afectar negativamente a las poblaciones nativas de osos, mediante la introducción de nuevos genes, que podría perturbar las adaptaciones a los entornos locales (Shields, 1983). Por lo que debe considerarse realizar dichas translocaciones dentro del mismo Estado o Provincia, al menos dentro de la distancia de dispersión natural del oso negro (entre 150 y 507 km; Stratman *et al.*, 2001; Hellgren *et al.*, 2004). Probablemente estas translocaciones no afectarán negativamente la genética de las poblaciones.

Una de las translocaciones más exitosas de cualquier carnívoro realizada, corresponde a la que se realizó a partir de 1958, de donde se movieron por 11 años 254 osos de Minnesota a las tierras altas del interior de Arkansas. Actualmente se cuenta con una población promedio de 2.500 osos en las tierras altas del interior de Arkansas, Missouri, y Oklahoma, Estados Unidos (Smith y Clark, 1994).

Los proyectos para la protección y conservación del oso negro mexicano serán exitosos hasta que la gente acepte al oso negro, como parte de la fauna regional. Para ello, los relacionados con la gestión y la investigación de los osos en las áreas en donde se distribuye esta especie deberán centrarse en programas de educación pública.

Por último debe ponerse a consideración la apertura de la temporada de caza de oso negro en nuestro país, ya que al considerarse como una especie cinegética, los pobladores locales no permitirán la cacería furtiva de esta especie que se traduciría en una pérdida económica en caso de aceptar.

Al permitirse la cacería, principalmente de machos adultos, traería como consecuencia un decremento en la depredación sobre los cachorros (osos menores a un año), además con esto se permitiría el reclutamiento de nuevos machos subadultos que se dispersan buscando nuevos territorios. Esto traería un flujo génico continuo entre las diferentes poblaciones de oso negro que se encuentran en el norte de México.

El número de individuos que se permitan cazar por temporada, corresponderá de acuerdo a los censos poblacionales realizados, capacidad de carga y diversidad genética, que en conjunto deberán garantizar la renovación natural de las poblaciones cosechadas.

CONCLUSIONES GENERALES

El objetivo principal de esta investigación se cumplió al aportar información relevante al conocimiento del oso negro americano (*Ursus americanus*) al:

- Compilar en general todo el conocimiento generado para este úrsido en México, el cual se encontraba disperso en investigaciones o reportes que en su mayoría no se publicaron en forma de artículos científicos.
- Determinar la historia evolutiva y diferenciación genética de las poblaciones mexicanas de oso negro.
- Y conocer algunos aspectos de su ecología como sus requerimientos alimentarios.

Todo esto permitirá diseñar herramientas más sólidas en la delineación de estrategias en la conservación de este mamífero en México.

LITERATURA CITADA

- AMOS, W. Y J. HARWOOD. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Phylosophical Transactions of the Royal Society of London* 353:177-186.
- BROWN, D. E. 1985. *The Grizzly in the Southwest*. University Oklahoma Press, Norman, Oklahoma.
- CARABIAS-LILLO, J., G. QUADRI DE LA TORRE, J. DE LA MAZA E. 1997. Programa de Manejo del Área de Protección de Flora y Fauna Cañón de Santa Elena, México Instituto Nacional de Ecología.
- CEBALLOS, G., J. ARROYO-CABRALES, Y R. A. MEDELLIN. 2002. The mammals of Meico: composition, distribution, and status. *Occasional Papers, Texas Tech University*, 218: 1-27.
- COSTELLO, C. M., D. E. JONES, R. M. INMAN, K. H. INMAN, B. C. THOMPSON Y H. B. QUIGLEY. 2003. Relationship of variable mast production to american black bear reproductive parameters in New Mexico. *Ursus*, 14: 1-16.
- CÔTÉ, S. D. 2005. Extirpation of a Large Black Bear Population by Introduced White-Tailed Deer. *Conservation Biology*, 1668–1671.
- CARVAJAL-VILLARREAL, S., Y A. LÓPEZ-VILLARREAL. 2007. Black Bear (*Ursus americanus*) Preliminar Survey in the National Park Cumbres de Monterrey (Ejido San Antonio de la Osamenta, Santa Catarina, Nuevo León, México). 18th International Conference on Bear Research & Management. November 7-11. Monterrey, Nuevo León. México.

- COMISIÓN NACIONAL DE ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS. 2009. Programa de Manejo, Reserva de La Biosfera Sierra Gorda, Querétaro, México. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas.
- DOAN-CRIDER, D. L. 1995. Population characteristics and home range dynamics of the black bear in northern Coahuila, Mexico. Tesis de Maestría. Texas A&M University-Kingsville, Kingsville, Texas USA.
- DELGADILLO-VILLALOBOS, J. 2001. Ecología nutricional del Oso Negro en la Sierra Maderas del Carmen, Coahuila, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Biológicas. UANL.
- DIXON, J. D., M. K. OLI, M. C. WOOTEN, T. H. EASON, J. W. MCCOWN, M. W. CUNNINGHAM. 2006. Genetic Consequences of Habitat Fragmentation and Loss: The Case of the Florida Black Bear (*Ursus americanus floridanus*) Conservation Genetic, Conservation Biology, 20(1):155–162.
- EHRlich, P. R. Y G. CEBALLOS. 1997. Población y medio ambiente: ¿qué nos espera?, Ciencia 48(4):19-30.
- GARSHELIS, D. L Y M. R. PELTON. 1981. Movements of Black Bears in the Great Smoky Mountains National Park. *The Journal of Wildlife Management*, 45(4):912-925.
- HARTL, D. L., A. G. CLARK. 1989. Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Sunderland. 682 p.
- HERRERA-GONZÁLEZ, D. E. 1999. Ecología de la dieta del Oso Negro (*Ursus americanus*) en el área natural “Maderas del Carmen” en el estado de Coahuila. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UANL. México. 75 p.

- HELLGREN, E. C., D. P. ONORATO, Y J. R. SKILES. 2004. Dynamics of a Black Bear Population within a Desert Metapopulation. *Biological Conservation*, 122(1):131-140.
- LANDERS, J. L. R. J. HAMILTON, A. S. JOHNSON AND R. I. MARCHINGTON. 1979. Foods and habitat of black bears in southeastern north Carolina. *J. Wildl. Manage.* 43:143-153.
- MCKINNEY, B. Y J. DELGADILLO-VILLALOBOS. 2007. Population dynamics and corridor protection for American black bears in northern Coahuila, Mexico sky island. 18th International Conference on Bear Research & Management. November 7-11. Monterrey, Nuevo León. México.
- MORENO-ARZATE, C. N. 2008. Ecología Conductual del Oso Negro (*Ursus americanus*) en la Sierra Madre Occidental. Tesis de Maestría, Instituto de Ecología, A. C. Xalapa, Veracruz, México.
- ONORATO, D. P., E. C. HELLGREN, R. A. VAN DEN BUSSCHE Y D. L. DOAN-CRIDER. 2004. Phylogeographic Patterns within a Metapopulation of Black Bears (*Ursus americanus*) in the American Southwest. *Journal of mammalogy*, 85:140-147.
- ROJAS-MARTÍNEZ, A. E. Y L. A. JUÁREZ-CASILLAS. (En prensa). Primer registro de oso negro americano (*Ursus americanus*) para el estado de Hidalgo, México. *Revista Mexicana de biodiversidad*.
- SHIELDS, W. M. 1983. Optimal inbreeding and the evolution of philopatry. En: *The ecology of animal movement*, I. R. Swingeland y P.J. Greenwood (Edits.). Oxford Clarendon Press. 132—159 p.

- SMITH, K. G. Y J. D. CLARK. 1994. Black Bears in Arkansas: Characteristics of a Successful Translocation. *Journal of Mammalogy*,75(2):309-320.
- STRATMAN, M., C. D. ALDEN, M. E. SUNQUIST. 2001. Long Distance Movement of a Florida Black Bear in the Southeastern Coastal Plain. *Ursus*, 12:55-58.
- SILVA-HURTADO, C. 2004. Hábitos alimenticios del Oso Negro (*Ursus americanus*) en la Sierra de San Luis, Sonora, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
- SIERRA-CORONA, R., I. A. SÁYAGO VÁZQUEZ, M. D. C. SILVA HURTADO, AND C. A. LÓPEZ GONZÁLEZ. 2005. Black Bear Abundance, Habitat Use, and Food Habits in the Sierra San Luis, Sonora, México. Proceedings, USDA Forest Service, Tucson.
- SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-2010. Protección Ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, 30 de diciembre de 2010.
- VARAS, C., C. GONZÁLEZ-LÓPEZ, P. KRAUSMAN Y M. CULVER. 2007. The Use of Non-invasive Techniques to Study the Endangered Black Bear in the Sierra El Tigre, Sonora, Mexico. 18th International Conference on Bear Research & Management. Noviembre 4-11, 2007. Monterrey, Nuevo León, México.

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

Luis Antonio Juárez-Casillas¹ y Cora Varas²

Abstract

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

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

Resumen

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

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

Introducción

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

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

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

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

Taxonomía

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

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

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

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

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

Análisis filogenéticos

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

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

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

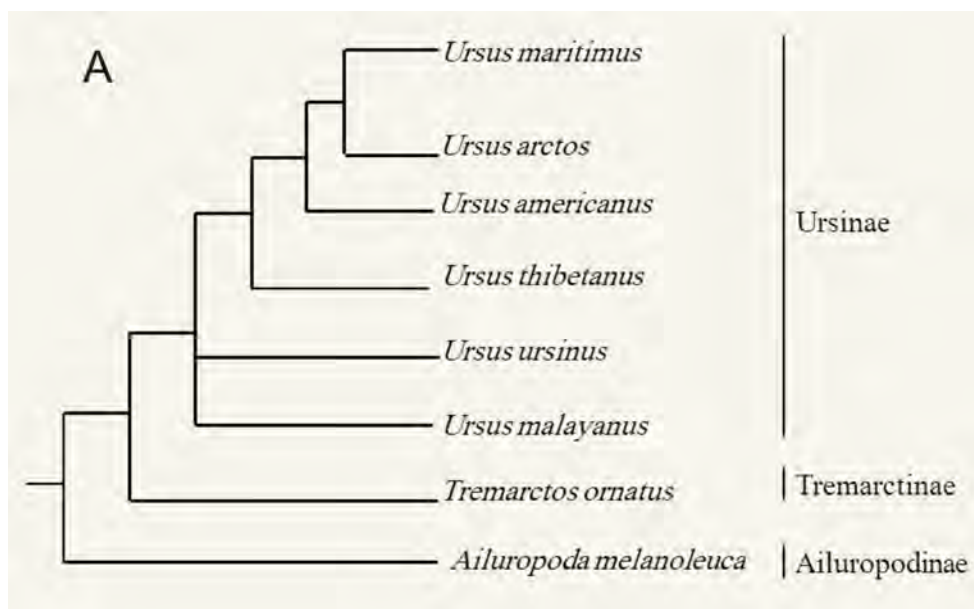
Por su parte, las seis especies de osos agrupadas en la subfamilia Ursinae, divergieron al comienzo del Plioceno en un rápido evento de radiación (Thenius 1990). Para reconstruir las relaciones filogenéticas de estas seis especies se han usado métodos inmunológicos (Goldman *et al.* 1989), de hibridación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

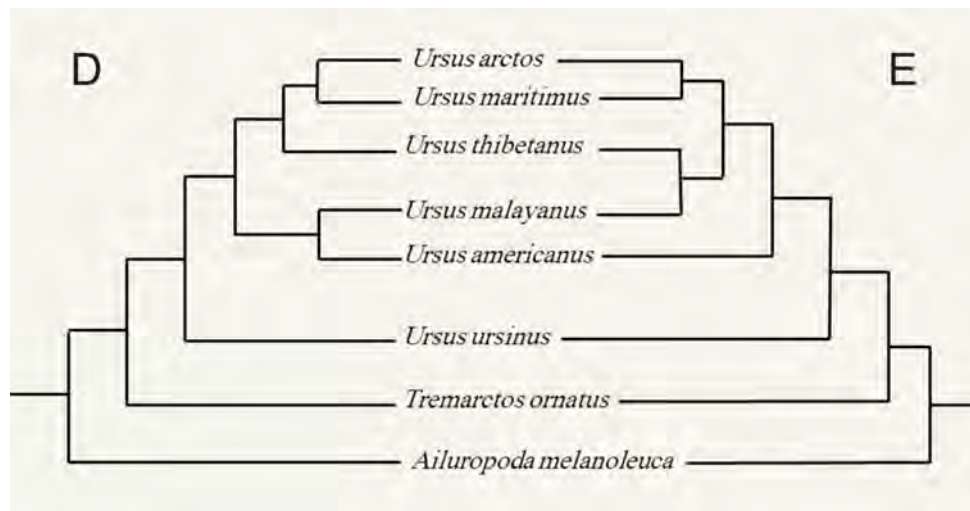
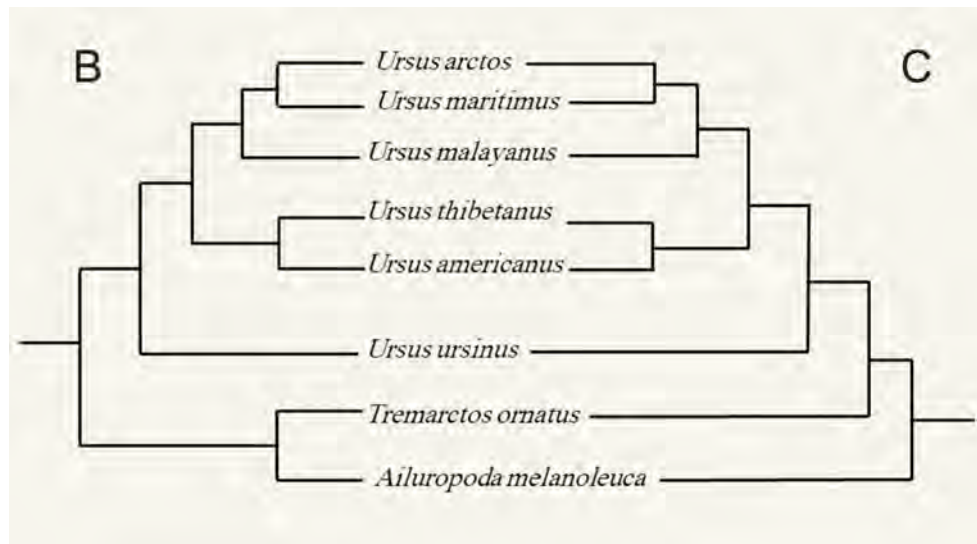
El análisis de 14 genes nucleares colocan al oso malayo y al oso bezudo como las especies más basales dentro de los ursinos (Fig. 1A; Pagés *et al.* 2008), pero en general se ha sugerido que el linaje del oso bezudo fue el primero en surgir formando un grupo monofilético (Figs. 1B-E; Zhang y Ryder 1993,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

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

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

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





Diversidad Genética y conservación

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

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

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

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

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

Panda gigante

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

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

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

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

Oso de anteojos

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

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

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

El oso negro americano

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

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

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

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

Oso gris

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

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

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

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

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

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

Oso polar

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

Oso negro asiático

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

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

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

Oso bezudo y oso malayo

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

Conclusiones

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

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

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

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

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

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

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

Referencias

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

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

360.

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

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

8:565-576.

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

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

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

27:616-627.

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

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

Sometido: 1 de Septiembre de 2010

Revisado: 21 de febrero de 2011

Aceptado: 5 de marzo de 2011

Editor asociado: Jan Schipper

