



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTORADO EN BIOLOGIA

Ecología y genética de paisaje del puma (*Puma concolor*)
en Argentina: análisis de estructura genética y conectividad

ORLANDO GALLO

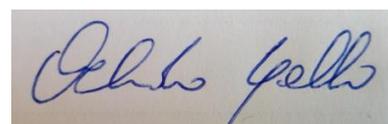
BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2020

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, en dependencias del Laboratorio de Genética para la Conservación del Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR), durante el período comprendido entre el 18 de agosto de 2015 y el 22 de noviembre de 2019, bajo la dirección de la Dra. Emma B. Casanave, Profesora Titular de Fisiología Animal y Manejo de Vida Silvestre, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia -BByF- UNS, e Investigadora Principal de CONICET; y la codirección del Dr. Diego F. Castillo, docente de Fisiología Animal, BByF-UNS, e Investigador Asistente de CONICET.



Orlando Gallo
DNI 95417092



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación
Continua

La presente tesis ha sido aprobada el 15 / 04 / 2020 ,
mereciendo la calificación de 10 (Sobresaliente y
mención especial).

*Al mio caro amico Paul, grazie infinite per avermi
accompagnato in questo viaggio!
.... Probabilmente non per tua scelta, quissá! ma non me ne
hai mai fatto una colpa, ;) dimostrando sempre la migliore
della predisposizione in qualsiasi occasione, qualità
distintiva del tuo carattere!
Da te ho imparato tanto e ti ricorderó sempre cosí come
in quel meraviglioso giorno
in piscina!!!*

29 AGOSTO 2012 – 17 APRILE 2017





*Celebrate it in the sun,
Promenade it with everyone,
Elevate it in a song and I'll be there to play it,
Don't get me wrong,
When I feel like dying and being gone
When life is hard, There's just one thing,
let's not forget
Yes! Life is it! it's where it's at,
It's getting skinny, getting fat
It's falling deep into a love,
It's getting crushed just like a bug
Life there's no love,
it's getting beat into the ground
It's getting lost and getting found,
To growing up and getting round
It's feeling silence, feeling sound,
It's feeling lonely, feeling full,
It's feeling oh so beautiful!*

[Life is hard, Edward Sharpe and the Magnetic Zeros]

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por haberme apoyado económicamente, otorgándome una beca doctoral.

Al Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR) y al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur (UNS) por el lugar de trabajo en donde se llevó a cabo mi tesis.

A mis directores, Dra. Emma B. Casanave y Dr. Diego F. Castillo, por guíarme en esta experiencia de formación y aconsejarme en el cumplimiento de las tareas a desarrollar, sobre todo por estar en un país que no es mi lugar de origen.

A la Dra. Raquel Godinho, y a todo su equipo de trabajo, por compartir sus conocimientos y experiencias conmigo, lo que me permitió adquirir las capacidades necesarias para realizar mi proyecto doctoral. La verdad es que ella fue como tener un tercer orientador.

Quiero agradecer a todas las Instituciones y Asociaciones que apoyaron económicamente mi proyecto o algunas de las etapas involucradas en el mismo: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT, PICT 2015-2283), CONICET (PIP 2014-2016 11220130100060CO01), Secretaría General de Ciencia y Tecnología - UNS (SGCyT-UNS, PGI 24/B243), Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos (SAREM, Subsidio para estudios mastozoológicos, categoría visita a colecciones), Centro de Investigaçã em Biodiversidade e Recursos Genéticos (CIBIO/InBIO, fondos privados), Wild Felid Research & Management Association (WFA, Wild Felid Legacy Scholarship), Conservation, Research and Education Opportunities International (CREOi), British Ecological Society (BES, Training and Travel Grant).

Un agradecimiento especial va para mis padres quienes, dentro de todo, tuvieron una parte importante en la formación de mis valores, dándome la capacidad de reconocer las cosas importantes en la vida y enseñándome el respeto antes de todo. Respeto para uno mismo y sobre todo hacia los demás... “si quieres ser respetado, primero hay que respetar”, “nunca trates al prójimo de una forma que no quieras ser tratado”, “que siempre mires al mejor y nunca al peor”, y la que más me gusta: “hacé como te hacen que no es pecado!”. Mis viejos y mis hermanos siempre me apoyaron en todas las decisiones que tomé, sin juzgarme o hacer preguntas cuando yo no quería....los quiero mucho!.

Por último, pero no por eso menos importantes ya que de lo contrario sin ellos no hubiera llegado al fin de mi doctorado, quiero agradecer a todas las personas que me ayudaron en las distintas etapas de colectas y análisis, o de apoyo psicológico y espiritual a lo largo de estos cinco años. Lamentablemente, en el ámbito de la carrera de investigación, las relaciones humanas representan demasiadas veces el factor olvidado de la ecuación, como si fuera una constante, un valor que puede ser omitido porque, estando siempre presente, no es relevante la importancia que le demos. Bueno, yo quiero recordarlo y remarcar el peso que tuvo en mi ecuación para lograr terminar mi doctorado. Muchas personas con las que me he cruzado en este tiempo terminaron siendo mis amigos, mi familia, y por eso quiero agradecerles puntualmente y dedicarle a ellos esta tesis, mi trabajo es de igual forma el suyo....GRACIAS Paulanka, J. Reppucci, C. Tellaeché, M. Guerisoli, R. Llanos, R. D'Agostino, V. D'Agostino, D. Sauthier, Equipo Patagónico (C. Mutti, Popo, H. Mazón, D. Centeno, Octa), K. Hughes, la Familia Segá (F. Norambuena, L. West, M. Garro), B. Chamber, P. Lazzarini, Los de acá (G. Zapperi, A. Wehitt, M. Piován, G. Pompozzi, V. Delhey, F. Rosales, J. Baglioni), la Comisión Salida de campo (A. Popp y A. Basso), los Compañeros del piso (C. Crescitelli, A. Campelo, B. Rauschemberger) y los amigos de Swing, particularmente Chechu y Sole.



INBIO SUR



Santa Cruz
Gobierno de la provincia



GOBIERNO
DE LA PROVINCIA
DE SAN LUIS



MENDOZA
GOBIERNO



GOBIERNO DE JUJUY
Ministerio de Ambiente



Buenos Aires
Provincia



Museo Provincial
de Ciencias Naturales
«Florentino Ameghino»



MUSEO
ARGENTINO
DE CIENCIAS
NATURALES
BERNARDINO
RIVADAVIA



RESUMEN

El aislamiento genético debido a la fragmentación del hábitat y a la consecuente pérdida de conectividad del paisaje es considerado como la mayor amenaza para la conservación de los grandes carnívoros, como es el caso del puma (*Puma concolor*). Debido a sus características biológicas, los mamíferos carnívoros son particularmente vulnerables a la pérdida y fragmentación del hábitat, como también a la persecución humana. Los ecosistemas argentinos han sido fuertemente modificados en las últimas décadas por la expansión de las actividades humanas y, aunque en el país el puma está protegido por la Ley Nacional N° 22.421, la especie se encuentra sometida a una alta presión de caza debido al creciente conflicto con la ganadería.

Enfocado en la conectividad funcional a nivel de paisaje, este estudio representa la primera evaluación de la genética de poblaciones de puma en Argentina. A partir del uso combinando de muestras invasivas y no invasivas, se propuso analizar la estructura poblacional y la distribución espacial de la diversidad de este felino a través el genotipado de marcadores microsatélites específicos. Además, la inclusión de provincias con diferente tipo de manejo permitió evaluar el efecto de la presión de la caza legal sobre la estructura genética de las poblaciones.

Se analizó un total de 401 muestras (180 cueros, 117 huesos, 61 heces y 43 músculos) en total, correspondientes a un período entre 1925-2018. La amplificación de 25 *loci* de microsatélites permitió la obtención de 199 genotipos individuales, siendo los cueros y músculos las tipologías de muestra con el éxito de genotipado mayor (70 y 67 %, respectivamente) y los huesos con el menor (30,8 %). Todos los marcadores resultaron polimórficos con un número promedio de alelos por *locus* de 8,2 (min: 4, máx: 14). Los análisis de estructuración poblacional sugieren la presencia de 4 grupos (*clusters*) genéticamente distintos. La diversidad genética general resultó ser moderada (heterocigosidad esperada $H_e = 0,722$) y heterogéneamente distribuida a lo largo del área de estudio, identificándose los mayores valores en el centro-norte y los menores en el sur y el este del país. El flujo de genes entre *clusters* resultó ser limitado y variable (0,6-16,2 % por generación), soportando la agrupación definida anteriormente.

En general las poblaciones de puma de Argentina resultaron genéticamente empobrecidas, evidenciando indicios de cuello de botella. El tamaño poblacional efectivo resultó, en la mayoría de los casos, inferior al valor mínimo para prevenir la pérdida de diversidad genética por endogamia. En efecto, todas las poblaciones resultaron moderadamente endogámicas ($F_{is} = 0,10-0,39$).

Debido a que la mayoría de los sitios de muestreo están conectados por un paisaje permeable a los movimientos de los pumas, la existencia de una estructuración espacial marcada para *P. concolor* pareciera estar fuertemente asociada con la persecución humana, evidenciándose una tendencia decreciente de flujo génico, al aumentar la presión de caza. Trabajos futuros deberían explorar aspectos demográficos de estas poblaciones, e identificar los factores que limitan su conectividad para que, de esta forma, se puedan generar estrategias que garanticen su viabilidad y la conservación de la especie.

ABSTRACT

Genetic isolation due to habitat fragmentation and the consequent loss of landscape connectivity represents the main threat to the conservation of large carnivores, such as puma (*Puma concolor*). Due to their biological traits, carnivores are particularly vulnerable to habitat loss and fragmentation, as well as human persecution. During the last decades, Argentine ecosystems have been highly modified by the expansion of human activities. Although the National Law N° 22.421 protects pumas in Argentina, the species is under high hunting pressure due to the increasing conflict with livestock.

Focused on functional connectivity at landscape level, this study represents the first evaluation of puma population genetics in Argentina. The study, based on the combined use of invasive and non-invasive samples, aims to analyze the population structure and spatial distribution of its diversity genotyping specific microsatellite markers. Moreover, the involvement of many provinces with different kind of management for the species enabled the assessment of legal hunting pressure effect on population genetics.

A total of 401 samples (180 skins, 117 bones, 61 scats and 43 muscles) were analyzed, corresponding to the period between years 1925-2018. The amplification of 25 microsatellite *loci* resulted in 199 individual genotypes, where skin and muscle samples showed the highest genotyping success (70 and 67 %, respectively), and bone samples the lowest (30.8 %). All markers were polymorphic with an average number of alleles per *locus* of 8.2 (min: 4, max: 14). Population structure analyses suggest the presence of four genetically distinct groups (*clusters*). The overall genetic diversity is quite high (expected heterozygosity $H_e = 0.722$) and not evenly distributed across the study area, identifying the highest values in the center-north and the lowest in the south and east of the country. Gene flow estimations were low and variable between *clusters* (0.6-16.2 % per generation), supporting the grouping defined above.

Puma populations in Argentina are genetically depauperated, expressing evidences of bottleneck events. The effective population size was in most of the cases less than the minimum value to prevent the loss of genetic diversity due to inbreeding. In fact, all populations were moderately inbred ($F_{is} = 0.10-0.39$).

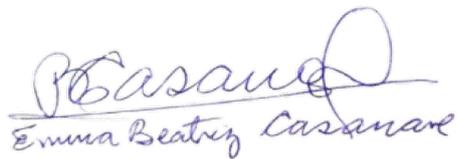
Since almost all sampling sites are connected through a landscape permeable to puma's movements, the strong spatial structure of *P. concolor* in Argentina would appear to be highly related to human persecution, evidencing a gene flow pattern decreasing as hunting pressure

increases. Future work should explore demographic aspects of these populations, and identify the factors that limit their connectivity, in order to generate plans that guarantee their viability and the conservation of the species.

Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridas por los jurados.

Director

Dra. Emma B. Casanave



Emma Beatriz Casanave

Co-Director

Diego F. Castillo

