



Orinoquia

ISSN: 0121-3709

orinoquia@hotmail.com

Universidad de Los Llanos

Colombia

Ruiz-García, M.; Castillo, M. I.; Álvarez, D.; Gardeazabal, J.; Borrero, L. M.; Ramírez, D. M.; Carrillo, L.; Nassar, F.; Gálvez, H.

Estudio de 14 especies de primates platirrinos (cebus, saimiri, aotus, saguinus, lagothrix, alouatta y ateles), utilizando 10 loci microsatélites: análisis de la diversidad génica y

de la detección de cuellos de botella con propósitos conservacionistas

Orinoquia, vol. 11, núm. 2, 2007, pp. 19-37

Universidad de Los Llanos

Meta, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89611203>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

ARTÍCULO ORIGINAL

# **Estudio de 14 especies de primates platirrinos (*cebus*, *saimiri*, *aotus*, *saguinus*, *lagothrix*, *alouatta* y *ateles*), utilizando 10 loci microsatélites: análisis de la diversidad génica y de la detección de cuellos de botella con propósitos conservacionistas**

## **Study of 14 platyrrhine primate species (*cebus*, *saimiri*, *aotus*, *saguinus*, *lagothrix*, *alouatta*, and *ateles*) using 10 DNA microsatellites: gene diversity and bottleneck event analyses with conservation propouses**

RUIZ-GARCÍA, M<sup>1.\*</sup>; CASTILLO, M.I.<sup>1</sup>; ÁLVAREZ, D.<sup>1</sup>; GARDEAZABAL, J.<sup>2</sup>; BORRERO, L. M.<sup>3</sup>; RAMÍREZ, D. M.<sup>3</sup>; CARRILLO, L.<sup>4</sup>; NASSAR, F.<sup>5</sup>; GÁLVEZ, H.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Genética (Laboratorio de Genética de Poblaciones Molecular-Biología Evolutiva). Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá DC., Colombia., <sup>2</sup>Sociedad Zoológica de Cali, Cali, Colombia., <sup>3</sup> Parque Zoológico Santa Fe, Medellín, Colombia., <sup>4</sup>Fundación Zoológico de Barranquilla, Barranquilla, Colombia., <sup>5</sup>Parque Zoológico Jaime Duque, Bogotá DC., Colombia., <sup>6</sup> Proyecto Peruano de Primatología, Ivita, Universidad Nacional de San Marcos, Iquitos, Perú.  
E-mail: [mrui@javeriana.edu.co](mailto:mrui@javeriana.edu.co)

Recibido: Julio 16 de 2007. Aceptado: Noviembre 19 de 2007

### RESUMEN

Se utilizaron 10 loci microsatélites para estudiar varios aspectos de la composición genética de 14 especies de Primates Platirrinos Neotropicales (*Cebus albifrons*, *Cebus apella*, *Cebus capucinus*, *Aotus nancymae*, *Saguinus oedipus*, *Saguinus leocopus*, *Saguinus geoffroyi*, *Saimiri sciureus*, *Saimiri boliviensis*, *Alouatta seniculus*, *Lagothrix lagotricha*, *Ateles fusciceps*, *Ateles hybridus* y *Ateles belzebuth*) en cuatro zoológicos colombianos (zoológico de Cali, de Medellín, de Barranquilla y Jaime Duque de Bogotá) y de una institución primatológica peruana (IVITA) (Iquitos), al igual que de especímenes muestreados directamente en la naturaleza. Diversos aspectos de la composición genética de las poblaciones de esas especies fueron analizados con propósitos conservacionistas: (1) Se determinó la variabilidad genética (heterocigosis esperada y número de alelos) de las respectivas colecciones de Primates de cada una de esas instituciones, al igual que de los animales capturados en la naturaleza, analizando, así, la variabilidad genética en cada una de las especies seleccionadas. (2) Se determinó si las poblaciones en cautiverio, al igual que las especies como un todo, estaban en equilibrio Hardy-Weinberg. Para ello se utilizaron diferentes estrategias analíticas, en función del tamaño de las muestras utilizadas: F de Wright, f de Robertson & Hill y estimación de valores de probabilidades exactas con cadenas de Markov. Esto es importante desde una perspectiva conservacionista para conocer qué colecciones poseen mayor variabilidad genética y, por lo tanto, ser fuente de parentales en programas de reproducción en cautiverio, o para la reintroducción de animales en la naturaleza. Igualmente, se determinó qué especies poseen menor variabilidad genética y si existe coincidencia con el estatus de peligro, o vulnerabilidad, registradas por la UICN para esas especies de Primates. (3) Teniendo en consideración el número de alelos por marcador, la heterocigosis esperada observada y la heterocigosis esperada a partir del número de alelos observados, y mediante los modelos mutacionales de alelos infinitos y "step-wise", se determinó qué colecciones de Primates en cautiverio han pasado por un cuello de botella reciente, y cuáles no. Estos estudios son muy importantes desde el punto de vista de la conservación biológica de especies de mamíferos neotropicales.

**Palabras Claves:** Primates Platirrinos; *Cebus*, *Saimiri*, *Aotus*, *Saguinus*, *Alouatta*, *Lagothrix*, *Ateles*, marcadores microsatélites (STRPs), diversidad génica, equilibrio Hardy-Weinberg, cuello de botella, Colombia, Perú.

## ABSTRACT

Ten microsatellite DNA loci (STRP) were employed to study several traits in the genetic composition of 14 Platyrrhini Neotropical Primate species (*Cebus albifrons*, *Cebus apella*, *Cebus capucinus*, *Aotus nancymae*, *Saguinus oedipus*, *Saguinus leucopus*, *Saguinus geoffroyi*, *Saimiri sciureus*, *Saimiri boliviensis*, *Alouatta seniculus*, *Lagothrix lagotricha*, *Ateles fusciceps*, *Ateles hybridus* and *Ateles belzebuth*) in four Colombian institutions (Cali, Medellín, Barranquilla and Jaime Duque Zoos) and in one Peruvian Primatologist institution (IVITA, Iquitos), as well as from individuals directly surveyed in the wild. Several aims related to the genetic composition of the populations of these species were analyzed from a conservation standpoint: (1) The genetic variability (expected heterozygosity and number of alleles) were determined in the respective Primate collections of each one of the quoted institutions, as well as for the overall species selected. (2) In these species and in their respective captive populations, the Hardy-Weinberg equilibrium was estimated. For this aim, different analytical procedures were employed in function of the sample sizes employed: Wright's  $F$  and Robertson and Hill's  $f$  statistics and estimations of the exact probability values with Markov's chains. This is important from a conservation perspective to know what collections have a greater genetic variability and, therefore, to be sources of parental in captive reproduction programs, or to reintroduce animals in the wild. In addition, there was determined which species have a lower genetic variability and whether it was in agreement with the danger, or vulnerability, status registered by the UICN for these Primate species. (3) Taking into account the number of alleles, the expected heterozygosity obtained from allele frequencies and the expected heterozygosity throughout the observed number of alleles by coalescent simulations, as well as the infinite allele and the step-wise mutation models, it was determined which Primate captive collections have suffered a recent bottleneck and which not. This kind of studies is very important from a biological conservation point of view for a great number of Neotropical mammal species.

**Key Words:** Platyrrhini Primates, *Cebus*, *Saimiri*, *Aotus*, *Saguinus*, *Alouatta*, *Lagothrix*, *Ateles*, STRPs (microsatellite loci), genetic diversity, Hardy-Weinberg equilibrium, bottleneck events, Colombia, Perú.

## INTRODUCCIÓN

Desde la década de los años 70 ha existido un creciente interés en el análisis de las características genéticas de diversas especies de Primates neotropicales, tanto desde el punto de vista de la estructura genética y de su relación con la estructura reproductiva, como de la conservación genética y de la filogenia de este importante grupo de mamíferos neotropicales. Entre los estudios más destacables, en el primer caso, caben citar los de Pope (1983, 1992) con *Alouatta seniculus* en Venezuela, Malgrem (1979) con *Alouatta palliata* en Costa Rica, Schneider et al., (1991) con *Alouatta belzebul* en Brasil, o los estudios de Sampaio et al., (1991) con el locus CA2, Barroso et al., (1990) con el locus Esterasa D y Schneider et al., (1994) con los loci LDHA y LDHB en diversas especies de Platyrrinos. Desde el punto de vista filogenético, los trabajos de Schneider et al., (1993, 1996), Harada et al., (1995) y Horovitz et al., (1998) son dignos de mencionar. Todos estos estudios citados se llevaron a cabo utilizando isoenzimas, proteínas plasmáticas, y más recientemente, secuenciación de algunos genes nucleares, tales como  $\beta$ -globina e IRBP. Sin embargo, en la última década el desarrollo de las técnicas moleculares, a partir de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), está permitiendo el análisis genético poblacional de un cierto número de especies

en una escala considerable. Entre los marcadores moleculares que se han desarrollado en los últimos años destacan los microsatélites (STRPs, Short Tandem Repeat Polymorphisms). Este tipo de marcador muestra cortos elementos repetitivos que contienen tandems de repetición de 1 a 6 pares de bases. Estos marcadores se caracterizan por ser sumamente abundantes en el genoma de los eucariotas, al igual que por estar distribuidos de forma aleatoria y ser sumamente polimórficos. En general, sus niveles de heterocigosis son muy elevados al compararlos con los típicos marcadores proteicos, isoenzimáticos o grupos sanguíneos que, tradicionalmente, se han utilizado en genética de poblaciones desde los años 60 (Menotti-Raymond & O'Brien, 1995). Debido a esa alta heterocigosis, y al elevado número de alelos que presentan, se han convertido rápidamente en marcadores sumamente útiles para la configuración de mapas genéticos de recombinación en multitud de diferentes especies. Igualmente, han servido como marcadores típicamente poblacionales y forenses. Por ejemplo, se han utilizado hasta el momento presente para analizar la estructura social de la ballena yubarta (*Megaptera novaeangliae*) (Amos et al., 1993), diagnósticos de paternidad en diversas especies de animales como, por

ejemplo, en poblaciones de chimpances (*Pan troglodytes*) (Morin et al., 1993), o para determinar qué machos son los más importantes desde el punto de vista reproductor durante el cortejo de *Drosophila pseudoobscura* (Noor, 1995). Igualmente, estos marcadores se han utilizado para clasificar individuos, según el grado de parentesco dentro de poblaciones de especies en peligro de extinción, y así proceder a su reproducción controlada, como en el caso del Oryx de Arabia (*Oryx leucoryx*) (Greth et al., 1991), para determinar la existencia de cuellos de botella poblacionales, como en el caso del lobo etíope (*Canis simensis*) (Gottelli et al., 1994)), o para determinar cuál ha sido el grado de pérdida de variabilidad genética durante el último siglo, al comparar el ADN recuperado en pieles del siglo pasado localizadas en museos, respecto a especímenes actuales del marsupial Wombat de nariz peluda (*Lasiorhinus krefftii*) (Taylor et al., 1994). Pero, también, estos marcadores han sido utilizados con finalidad de tipo sistemático. Por ejemplo, la determinación de la existencia de un linaje puro de lobo gris mexicano (*Canis lupus bayileyi*) (García-Moreno et al., 1996) y el posible estatus de nuevas especies de chimpancés a partir de las subespecies morfológica y culturalmente reconocidas (Morin et al., 1994).

Debido a las características citadas de estos marcadores moleculares, nuestro grupo de investigación, con la ayuda de diversos parques zoológicos colombianos, de un centro de primatología peruano, de varios biólogos de campo y de ciertas comunidades indígenas, hemos iniciado un análisis genético molecular de 14 especies de Primates neotropicales pertenecientes a 7 géneros diferentes (*Cebus*, *Saimiri*, *Aotus*, *Saguinus*, *Lagothrix*, *Alouatta* y *Ateles*) utilizando 10 loci microsatélites de ADN nuclear (AP6, AP40, AP68, AP74, D5S117, D17S804, D5S111, D6S260, D14S51 y D8S165), de RFLP (Polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción) aplicados al ADN mitocondrial, al igual que RAPD (Polimorfismos de amplificación de ADN al azar) y secuenciación de genes mitocondriales. En el presente trabajo, utilizando los marcadores

microsatélites, se presentan algunos resultados moleculares de importancia en el área de la conservación biológica: (a) Se discuten el polimorfismo y la heterocigosis esperada (= diversidad génica) en las especies estudiadas, al igual que los valores encontrados para esos estadísticos en las poblaciones en cautiverio en los zoológicos de Cali, Medellín, Barranquilla, Jaime Duque y en el centro de reproducción de Primates no humanos del proyecto peruano de primatología (IVITA) en Iquitos (Perú). Se analiza la diversidad génica de esas colecciones esperando encontrar qué grupos de Primates poseen mayor diversidad y, por lo tanto, pudieran ser óptimos para la elección de reproductores, o de animales que, eventualmente, pudieran ser reintroducidos en la naturaleza. (b) Se analizó la existencia de equilibrio Hardy-Weinberg a nivel de cada una de las especies analizadas, al igual que en cada una de las poblaciones en cautiverio de las que se dispusieron muestras. Para ello se utilizaron tres métodos diferentes. La F de endogamia de Wright (1965), la f de Robertson & Hill (1984) y el valor de probabilidad exacta (P) con cadenas de Markov para el caso de los números muestrales más pequeños y para aquellas especies y marcadores donde se dieron alelos con frecuencias muy pequeñas. Estos análisis son importantes para detectar la incidencia de eventos evolutivos, tales como endogamia, efecto Wahlund (= subdivisión geográfica) o el cruce, en el caso de las poblaciones en cautiverio, de sujetos pertenecientes a diferentes taxones moleculares, que no son reconocibles simplemente a nivel morfológico. La determinación de unidades genéticas claramente diferenciadas de otras es de vital importancia para el manejo reproductivo y conservacionista de éstas. (c) Por último, haciendo uso de la teoría generada por Cornuet & Luikart (1996), Luikart & Cornuet (1998) y Luikart et al., (1998), se analizaron las poblaciones de diversas especies de Primates en cautiverio, con diversos conjuntos de marcadores, para detectar cuál de ellas ha sufrido cuellos de botella recientes y, por lo tanto, con interés de buscar mecanismos para aumentar la variabilidad genética en las mismas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron muestras de sangre y de pelo con bulbos de 306 especímenes pertenecientes a 14 especies diferentes de Primates Platorinos procedentes de cuatro zoológicos colombianos (Jaime Duque, Bogotá; Cali; Medellín y Barranquilla) y de un centro peruano de reproducción en cautiverio de Primates no humanos (Proyecto Peruano de Primatología, IVITA, Iquitos), más otras obtenidas en la naturaleza procedentes de México,

Colombia y Costa Rica utilizando 10 marcadores microsatélites (STRPs) de ADN nuclear (AP6, AP40, AP68, AP74, D5S117, D17S804, D5S111, D6S260, D14S51 y D8S165). Todas las muestras de ADN obtenidas de ejemplares procedentes de zoológicos fueron obtenidas mediante muestras de sangre, mientras que todas las muestras de ADN obtenidas directamente en la naturaleza procedieron de muestras de pelos con

raíces. Algunas de esas muestras fueron utilizadas previamente para un estudio de carácter filogenético (Ruiz-García & Alvarez, 2003). El número de individuos

por especie y por colección, al igual que el área geográfica de procedencia de los ejemplares capturados en la naturaleza, se presentan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Especies de Primates neotropicales, número de ejemplares estudiados por institución, número de ejemplares obtenidos en la naturaleza y su correspondiente procedencia geográfica, utilizados en el presente trabajo aplicando varios marcadores microsatélites de ADN. \* Adicionalmente, se analizaron varios ejemplares más en IVITA, posibles híbridos de *Saimiri sciureus macrodon* y *Saimiri boliviensis peruvensis*.

	N total	Cali	Jaime Duque	Medellín	Barranquilla	IVITA	Naturaleza	Procedencia Geográfica
<i>Cebus apella</i>	58	7	3	15		23	Llanos Orientales	Amazonía
<i>Cebus albifrons</i>	56	9	8	11		28	Llanos Orientales.	Amazonía
<i>Cebus capucinus</i>	23	11	3	6		3	Costa Rica	
<i>Saimiri sciureus</i>	47	10	7		4*	26	Llanos Orientales.	Amazonía
<i>Saimiri boliviensis</i>	4				4*			
<i>Aotus nancymae</i>	9				9			
<i>Saguinus oedipus</i>	6		6					
<i>Saguinus leucopus</i>	13		13					
<i>Saguinus geoffroyi</i>	4		4					
<i>Alouatta seniculus</i>	12	4	8					
<i>Lagothrix lagotricha</i>	15	4	3			8	Amazonía	
<i>Ateles belzebuth belzebuth</i>	6		5			1	Serranía de la Macarena	
<i>Ateles hybridus</i>	5			4		1	Departamento del Cesar	
<i>Ateles fusciceps</i>	34	10	11	10		3	Costa Atlántica	

*Cebus apella*: Se analizó un total de 56 individuos de esta especie, 28 de las cuales proceden de los zoológicos de Cali, Jaime Duque y Medellín. Las muestras procedentes de la naturaleza se recolectaron en la Amazonía colombiana (Leticia) y en el pie de monte de la cordillera oriental. La mayor parte de los individuos pertenecen a la subespecie morfológica *Cebus apella apella*, aunque algunos ejemplares obtenidos en la Amazonía colombiana tenían rasgos característicos de la subespecie morfológica *Cebus apella macrocephalus*, típica de la Amazonía peruana. Ambas subespecies están clasificadas en riesgo menor (LR) por la UICN (1996). Los 10 microsatélites citados fueron ensayados en esta especie. El marcador AP74 no amplificó para esta especie.

*Cebus albifrons*: Se analizaron 58 individuos de los que 25 procedieron de diversos zoológicos (Cali, Jaime Duque, Medellín) y los restantes fueron obtenidos de la naturaleza. Esta especie posee, en Colombia, un rango de distribución muy amplio pero fuertemente discontinuo (Hernández-Camacho & Cooper, 1976). Una buena fracción (alrededor del 65 %) pertenecen a las subespecies morfológicas *Cebus albifrons versicolor* y *C. a. cesarae* (Magdalena y Costa Atlántica). Adicionalmente, algunos de los animales directamente muestreados en la naturaleza (zona Amazónica) pueden pertenecer a las formas subespecíficas *C. a. albifrons*, *C. a. unicolor* y *C. a. cuscinus*. La subespecie *unicolor* está considerada en riesgo menor (LR), mientras que las subespecies *versicolor* y *cuscinus* están clasificadas por la UICN con datos insuficientes (DD). Ocho

microsatélites fueron aplicados en esta especie (AP40, AP68, AP74, D5S111, D5S117, D6S260, D14S51 y D17S804).

*Cebus capucinus*: Se analizaron 23 individuos. Únicamente se obtuvieron tres muestras procedentes directamente de la naturaleza, mientras que las restantes proceden de los zoológicos de Cali, Jaime Duque y Medellín. Esas muestras pertenecen a la subespecie morfológica *Cebus capucinus capucinus*. En adición, se analizaron otras tres muestras que proceden de Costa Rica (área pacífica del Parque Nacional Manuel Antonio) y que pertenecen a la subespecie *C. c. imitator*. Ambas subespecies están clasificadas en la categoría de riesgo menor (LR). En esta especie se analizaron tres marcadores moleculares (AP40, AP68 y AP74).

*Saimiri sciureus*: Un total de 47 individuos de origen colombiano y peruano fueron analizados. Veintiseis de ellos fueron obtenidos en la naturaleza, mientras que los 21 restantes provenían de poblaciones en cautiverio (zoológico de Cali, Medellín, Centro de reproducción de Primates no humanos, Iquitos). En Colombia, se distinguen, al menos, la existencia de tres subespecies diferentes, siendo éstas, *Saimiri sciureus albigena*, *S. s. cassiquiarensis* y *S. s. macrodon*. Los ejemplares peruanos pertenecen a esta última subespecie. Los animales directamente muestreados en la Amazonía pertenecen también a esta subespecie, mientras que los restantes fueron muestreados en los Llanos Orientales de Colombia. Las tres subespecies están clasificadas como en riesgo menor (LR) por la UICN (1996). En esta especie de *Saimiri* se analizaron 9 marcadores microsatélites (AP40, AP68, AP74, D5S111, D5S117, D6S260, D8S165, D14S51 y D17S804). El marcador AP68 no amplificó para este género.

*Saimiri boliviensis*: Se analizaron cuatro individuos procedentes del centro de reproducción de Primates no humanos de IVITA en Iquitos. Los cuatro individuos pertenecen a la subespecie morfológica *Saimiri boliviensis peruvensis* descrita por Hershkovitz (1984). También se analizaron algunos individuos híbridos entre *S. sciureus macrodon* y *S. boliviensis peruvensis*. Para esta especie se analizaron dos marcadores (AP40 y AP74). La especie en cuestión está clasificada por la IUCN en riesgo menor (LR).

*Aotus nancymae*: Se analizaron 9 individuos procedentes del centro de reproducción de Primates no humanos de Iquitos (Perú). Estos animales fueron capturados en la naturaleza, concretamente en la isla Iquitos (San Pedro) y en la quebrada de Yanayaky. En esta especie se

aplicaron los marcadores AP40, AP68 y AP74. Esta especie está englobada en la categoría de riesgo menor (LR).

*Saguinus oedipus*: Se analizaron seis muestras de esta especie endémica de Colombia, todas ellas procedentes del zoológico de Medellín. Está categorizada en peligro (EN) por la UICN. Tres marcadores moleculares fueron aplicados en esta especie (AP40, AP68 y AP74).

*Saguinus leocopus*: Se analizaron 13 individuos de esta especie endémica colombiana, todos ellos procedentes del zoológico de Medellín. Está clasificada en la categoría de vulnerable (VU) por la UICN. Al igual que en el caso anterior, se analizaron los marcadores AP40, AP68 y AP74.

*Saguinus geoffroyi*: Cuatro fueron los especímenes analizados, procedentes del zoológico de Medellín. Está clasificada por la UICN (1996) en riesgo menor (LR). Los mismos marcadores que se emplearon para las otras dos especies de *Saguinus*, fueron utilizadas con la presente especie.

*Alouatta seniculus*: Doce individuos (Cali y Medellín) fueron analizados. Todos los animales de procedencia colombiana pertenecieron a la subespecie morfológica *Alouatta seniculus seniculus*. La UICN la categorizó como en riesgo menor (LR). En la misma se aplicaron cuatro marcadores moleculares (AP6, AP40, AP68 y AP74).

*Lagothrix lagotricha*: Se analizaron 15 especímenes, ocho provenientes directamente de la naturaleza (Amazonía colombiana) y siete procedente de cautiverio (Cali y Medellín). La mayor parte de los individuos pertenecen a la subespecie morfológica *Lagothrix lagotricha lagotricha*, propia de la Amazonía colombiana y de una buena fracción de los Llanos Orientales, hasta la ribera norte del río Guaviare. Sin embargo, algunos individuos poseían el típico pelaje de la subespecie *Lagothrix lagotricha lugens*, endémica de Colombia, y que se distribuye por el pie de monte de los departamentos de Meta, Boyacá y Arauca.

La subespecie *lagotricha* está clasificada como vulnerable (VU), o en riesgo menor (LR), mientras que la subespecie *lugens* está categorizada en peligro crítico (CR). Nueve microsatélites de ADN nuclear se aplicaron a esta especie (AP6, AP40, AP68, AP74, D5S111, D5S117, D6S260, D14S51 y D17S804).

*Ateles belzebuth belzebuth*: Se analizaron seis

ejemplares, cinco de ellos procedentes del zoológico de Medellín y uno procedente de la naturaleza. La UICN (1996) considera este taxón como vulnerable (VU). Nueve marcadores microsatélites fueron aplicados al género *Ateles* (AP40, AP68, AP74, D5S111, D5S117, D6S260, D8S165, D14S51 y D17S804).

*Ateles hybridus*: Aunque usualmente este taxón ha sido considerado una forma subespecífica de *Ateles belzebuth* (*A. belzebuth hybridus*), e, incluso, una subespecie morfológica de *Ateles geoffroyi* (*A. geoffroyi hybridus*; Froehlich et al., 1991), ahora es considerada como una especie plena (Collins, 1999; Collins & Dubach, 2000; Ruiz-García et al., 2006). Se estudiaron cinco muestras, cuatro de ellas procedentes del zoológico de Barranquilla y una procedente de la naturaleza. Este *Ateles*, endémico de Colombia y Venezuela, está considerado en peligro (EN).

*Ateles fusciceps*: Se analizaron 34 especímenes. De ellos, 31 proceden de poblaciones en cautiverio (Cali, Medellín y Barranquilla), mientras que tres proceden de la naturaleza (Alto Sinú, Córdoba). Los animales estudiados poseen un fenotipo completamente negro, lo que indica que su clasificación subespecífica morfológica es la de *Ateles fusciceps robustus*. A modo comparativo, se analizaron los genotipos de dos *Ateles geoffroyi vellerosus* muestreados directamente en México por dos de los autores (M. R-G y D. A). *Ateles fusciceps* está clasificada como vulnerable (VU).

Los cebadores para la amplificación vía PCR de los 10 loci microsatélites empleados provienen de las siguientes fuentes. Los marcadores AP6, AP40, AP68 y AP74 fueron desarrollados para el Primate Platirrino *Alouatta palliata* (Ellsworth & Hoelzer, 1998) y sus respectivos motivos de repetición fueron, respectivamente, (TG)<sub>11</sub>, (TG)<sub>4</sub>CA(TG)<sub>6</sub>, (TG)<sub>17</sub> y (TG)<sub>19</sub>, mientras que los marcadores D5S111, D5S117, D6S260, D8S165, D14S51 y D17S804 fueron diseñados para humanos y, previamente, utilizados en *Saimiri boliviensis* (Rogers et al., 1995; Zhong et al., 1996).

Para llevar a cabo el presente análisis, se recolectaron de 0.5 a 4 ml de sangre en tubos con EDTA disódico. También se obtuvieron mechones de pelos con raíces de los animales básicamente muestreados en el campo. Con las muestras de sangre se procedió a extraer el ADN con tres métodos diferentes. Estos fueron los métodos del fenol-cloroformo (Sambrook et al., 1989), DTAB-CTAB (Doyle & Doyle, 1987) y con Chelex (Walsh et al., 1991). Las extracciones de ADN nuclear de las células que envuelven la raíz del pelo se llevó a cabo

con la resina Chelex. El rango de concentraciones del ADN extraído a partir de sangre osciló entre 29 y 771.25 ng/ul. Una vez el ADN fue extraído se procedió a la amplificación del mismo utilizando la técnica del PCR. Para ello se hicieron reacciones de PCR con un volumen de 25 µl, cuando el ADN fue extraído con los métodos del fenol-cloroformo y DTAB-CTAB, con 1.5 µl de MgCl<sub>2</sub> 3 mM, 2.5 µl de Buffer 10x, 1 µl de dNTPs 1 mM, 4 pmol de cada cebador (primer), 16.5 µl de H<sub>2</sub>O, 2 µl de ADN (50-100 ng por µl) y 0.5 unidades de Taqpolimerasa. Cuando la extracción se llevó a cabo con Chelex (pelos), el volumen de la reacción de PCR fue de 50 µl, con una cantidad doble de los reactivos citados y 20 µl de ADN. La reacción se llevó a cabo en un termociclador Geneamp PCR System 9600 de Perkin Elmer. Las temperaturas utilizadas fueron las siguientes: 95 °C durante 5 minutos; a continuación 30 ciclos de 1 minuto a 95 °C, 1 minuto a la temperatura óptima de anillamiento (47 °C para AP6, 57 °C para AP40, 50 °C para AP68, 52 °C para AP74, D5S111, D5S117, D6S260, D8S165, D14S51, D17S804) y 1 minuto a 72 °C.

Finalmente, 5 minutos a 72 °C. Los productos de la amplificación se almacenaron a 4 °C hasta el momento en que fueron utilizados. Se procedió a observar si las muestras realmente habían amplificado en un gel de agarosa al 3 % teñido con bromuro de etidio. Una vez se comprobó que las muestras habían amplificado, éstas se corrieron en geles desnaturalizantes de poliácridamida al 6 % en una cámara vertical Hoefer SQ3 sequencer, que permite resolver diferencias de hasta una única base. Después de la migración durante unas 2-3 horas, dependiendo del tamaño del marcador, a 35 W constantes y a un voltaje que osciló entre los 950 y 2300 v, se procedió a la tinción del gel con AgNO<sub>3</sub>. Los marcadores de peso molecular utilizados fueron ? 174 cortado con Hind III y Hinf I.

Una vez los geles fueron analizados y se distinguieron perfectamente los genotipos de los especímenes estudiados se procedió a determinar algunos estadísticos genético poblacionales básicos, tales como el número de alelos, las frecuencias alélicas, la tasa de polimorfismos, y las heterocigosis esperadas insesgadas con el método de Nei (1978). Este último estadístico es sumamente importante como medida de la variación genética de una especie, o población, ya que es independiente del número observado de individuos heterocigotos, con lo que es independiente de selección favorable o contraria, en general, para homo y/o heterocigotos, y de las estrategias reproductivas en el seno de la población. Una pérdida significativa de la

heterocigosis media esperada puede indicar claramente la acción de diferentes procesos estocásticos, como la deriva genética, o de selección actuando en contra de un alelo particular y, por lo tanto, modificando las frecuencias alélicas (Ruiz-García, 1991).

En aquellas especies, y en aquellas colecciones de Primates obtenidas en las referidas instituciones muestreadas, que contuvieron un número elevado de individuos se procedió al análisis del equilibrio Hardy-Weinberg para alguno de los marcadores moleculares empleados. Para ello se utilizaron tres métodos diferentes. El primero de ellos fue el estadístico F de Wright (1965), en ocasiones obtenido como la  $F_{is}$  de Wright, pero calculado con el método de Weir & Cockerham (1984), cuya expresión es:

$F = 1 - (H_o/H_e)$ , dónde  $H_o$  es el número observado de heterocigotos y  $H_e$  es el número de heterocigotos esperados en equilibrio Hardy-Weinberg. La significación del estadístico F se midió con la expresión:

$\chi^2 = F^2 N (m - 1)$ , con  $m(m - 1)/2$  grados de libertad, dónde  $N$  es el número de individuos analizados y  $m$  es el número de alelos encontrados en cada locus (Li & Horvitz, 1953). El segundo procedimiento analítico empleado fue la  $f$  de Robertson & Hill (1984). Para cada alelo  $i$ , la estima insesgada de la desviación de la frecuencia de homocigotos ( $i$ ) respecto a los valores esperados en equilibrio Hardy-Weinberg de estas frecuencias tiene la siguiente expresión:

$T_{ii} = [2(2n - 1) n_{ii} - n_i(n_i - 1)]/[4(n - 1)]$ , dónde  $n$  es el tamaño de la muestra,  $n_{ii}$  es el número de homocigotos observados y  $n_i$  es el número de alelos  $i$  en la muestra estudiada. Para cada alelo, la estima de  $f$  es:

$f_{ii} = 4nT_{ii}/[n_i(2n - n_i)]$ . El estadístico total, para el locus en cuestión, será,

$f_T = 2(T_{ii}/n_i)/(m - 1)$ , dónde  $m$  es el número de alelos detectados en un locus determinado. Ambos,  $f_{ii}$  y  $f_T$ , tienen expresiones matemáticas que permiten calcular la esperanza de sus varianzas. El tercer método empleado se aplicó, en especial, en aquellos casos donde se dieron alelos raros con frecuencias muy bajas. Este fue la estimación de valores de probabilidad exactos utilizando el método de las cadenas de Markov con el procedimiento de Raymond & Rousset (1995). Se especificó un número de 50 bloques en cada análisis, 1000 réplicas por bloque y 1000 pasos de demorización. Con esta técnica, para tener un nivel de significación más poderoso, se utilizó como hipótesis alternativa, para el rechazo del equilibrio Hardy-Weinberg, tanto la existencia de un déficit de heterocigotos como el exceso de heterocigotos.

Se analizó, en adición, la posibilidad de que algunas de las colecciones de Primates en cautiverio estudiadas hubieran pasado por un cuello de botella reciente (reciente significa  $2N_e - 4N_e$  generaciones anteriores), ya sea en sus poblaciones naturales, ya sea en la constitución de las propias poblaciones cautivas. Para ello, se utilizó la teoría generada por Cornuet & Luikart (1996), Luikart & Cornuet (1998) y Luikart et al., (1998). Las poblaciones que han experimentado un cuello de botella reciente de sus tamaños efectivos reducen, simultáneamente, el número de alelos por locus y la heterocigosis esperada. Sin embargo, el número de alelos desciende más rápidamente que la heterocigosis esperada, de tal modo que el cálculo de la heterocigosis esperada a partir del número de alelos (Cornuet & Luikart, 1996) será inferior a la heterocigosis esperada obtenida. Este exceso de heterocigosis esperada, respecto a la que se obtendría a partir del número de alelos, se ha demostrado fehacientemente en el modelo mutacional de los alelos infinitos (Kimura & Crow, 1964), aunque no es tan claro en el modelo mutacional "step-wise" (Ohta & Kimura, 1973). Los marcadores microsatélites empleados, aunque, probablemente, más cercanos al segundo modelo mutacional, no lo siguen estrictamente, de tal modo que cuando el modelo "step-wise" se desvía ligeramente hacia el modelo de los alelos infinitos, el exceso de heterocigosis esperada, ante la presencia de un cuello de botella, se manifiesta rápidamente. Para marcadores neutrales, en una población en equilibrio mutación-deriva genética existe la misma probabilidad de que un locus dado muestre un ligero exceso, o defecto, de heterocigosis esperada respecto aquella calculada a partir del número de alelos. Por el contrario, en una población que haya pasado por un cuello de botella reciente, la mayor parte de los marcadores presentaran un exceso de heterocigosis. Para medir esa probabilidad hemos utilizado cuatro procedimientos diferentes: el test del signo, el test de las diferencias estandarizadas (Cornuet & Luikart, 1996; Luikart & Cornuet, 1998), el test del signo rango de Wilcoxon (Luikart et al., 1998) y el descriptor gráfico de la forma de la distribución de las frecuencias alélicas. Una población que no haya pasado por un cuello de botella reciente mostrará una distribución en forma de L (como se espera en una población en equilibrio mutación-deriva), mientras que una población que haya sufrido un cuello de botella reciente presentará una distribución sesgada ("mode-shift distribution"). El test del signo rango de Wilcoxon es el más poderoso y robusto cuando el número de loci analizados es pequeño, como en el presente caso. Las poblaciones que no muestren haber pasado por un cuello de botella podrían servir, si así se las requiriera, como potenciales unidades reproductivas en cautiverio.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Diversidad genética y equilibrio Hardy-Weinberg en las especies analizadas de *Primates neotropicales*

En la Tabla 2 se muestran las heterocigosis y los resultados del análisis del equilibrio Hardy-Weinberg aplicados a las 14 especies globalmente analizadas para los marcadores microsatélites empleados.

*Cebus apella*: De los 10 marcadores empleados en esta especie, únicamente uno (AP74) no amplificó. De los nueve marcadores restantes, seis fueron polimórficos (66.6 %) (AP6, D5S111, D5S117, D6S260, D8S165, y D14S804). El que mayor número de alelos mostró en esta especie fue el locus D14S51 con cinco alelos. Los valores de heterocigosis, para los loci polimórficos,

**Tabla 2.** Heterocigosis esperada, estimas de niveles de endogamia y probabilidades de sesgo respecto a las frecuencias genotípicas esperadas en equilibrio Hardy-Weinberg para 14 especies de *Primates neotropicales*, utilizando 10 marcadores microsatélites de ADN (AP6, AP40, AP68, AP74, D5S111, D5S117, D6S260, D8S165, D14S51, D17S804). No todos los marcadores fueron aplicados a todas las especies y ciertos marcadores resultaron monomórficos en diversas especies, por lo que no son reportados en esta tabla. H = Heterocigosis esperada. F = Coeficiente F de endogamia de Wright. f = estimador f de Robertson & Hill. g.l. = grados de libertad. p = Probabilidad. La Probabilidad Exacta fue calculada mediante cadenas de Markov. NS = No significativo.

Especies	Microsatélites	H	F	c <sup>2</sup>	g.l	p	f	c <sup>2</sup>	g.l	p	Probabilidad exacta
<i>Cebus apella</i>	Ap6	0.500	0.200	1.600	6	N.S.	0.280	1.820	1	N.S.	0.6463±0.0017
	D5S111	0.333	-0.200	0.120	1	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	1.0000±0.0000
	D5S117	0.545	-0.333	0.667	1	N.S.	-0.266	0.427	1	N.S.	0.9307±0.0023
	D6S260	0.733	0.455	1.240	3	N.S.	0.667	2.667	1	N.S.	0.2049±0.0068
	D8S165	0.500	0.201	0.966	4	N.S.	0.233	1.233	1	N.S.	0.7641±0.0074
	D14S51	0.786	-0.009	9.000	10	N.S.	0.021	0.007	1	N.S.	0.7790±0.0122
<i>Cebus albifrons</i>	Ap68	0.060	1.000	33.000	1	0.0001	1.000	35.095	1	0.0001	0.0096±0.0004
	Ap74	0.919	0.244	42.414	28	0.000	0.132	37.235	1	0.0000	0.0000±0.0000
	D5S111	0.933	0.143	12.000	10	N.S.	0.255	0.750	1	N.S.	0.3865±0.0271
	D6S260	0.800	0.000	0.000	6	N.S.	0.111	0.111	1	N.S.	0.7389±0.0137
	D14S51	0.833	-0.600	1.440	3	N.S.	-0.250	0.250	1	N.S.	0.5684±0.0143
<i>Cebus capucinus</i>	Ap74	0.719	0.205	2.307	15	N.S.	0.304	5.101	1	0.0239	0.1936±0.0143
<i>Saimiri sciureus</i>	Ap74	0.846	0.287	85.194	45	0.0000	0.257	22.026	1	0.0000	0.0000±0.0000
	D5S111	0.250	-0.142	0.082	1	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	0.7751±0.0174
	D6S260	0.533	1.000	5.000	1	0.0253	1.000	7.812	1	0.0052	0.0043±0.0006
	D8S165	1.000	-0.333	0.667	6	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	0.9636±0.0051
	D14S51	0.786	-0.091	9.000	10	N.S.	0.020	0.007	1	N.S.	0.9336±0.0096
	D17S804	0.750	0.619	4.599	6	N.S.	0.555	3.704	1	N.S.	0.0543±0.0055
<i>Saimiri boliviensis</i>	Ap74	0.333	-0.200	0.120	1	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	0.8467±0.0064
<i>Aotus nancymae</i>	Ap68	0.125	-0.067	0.036	1	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	1.000±0.0000
	Ap74	0.700	0.619	16.500	6	0.0113	0.696	11.640	1	0.0006	0.0028±0.0008
<i>Saguinus oedipus</i>	Ap68	0.485	0.250	0.375	1	N.S.	0.375	0.844	1	N.S.	0.645±0.0070
	Ap74	0.733	0.455	1.240	3	N.S.	0.667	2.667	1	N.S.	0.1025±0.0024
<i>Saguinus leucopus</i>	Ap68	0.250	-0.143	0.082	1	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	0.867±0.0091
	Ap74	0.580	0.120	0.864	4	N.S.	0.164	1.243	1	N.S.	0.7661±0.0126
<i>Saguinus geoffroyi</i>	Ap74	0.610	0.000	0.000	1	N.S.	0.051	0.643	1	N.S.	0.9654±0.0233
<i>Alouatta seniculus</i>	Ap6	0.500	-0.330	0.220	1	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	0.8640±0.0120
	Ap68	0.774	-0.224	18.492	10	0.0472	-0.120	0.580	1	N.S.	0.9177±0.0077
	Ap74	0.604	0.491	3.374	3	N.S.	0.367	1.886	1	N.S.	0.0815±0.0047
	Ap6	0.758	0.390	3.210	6	N.S.	0.440	4.150	1	0.0417	0.0661±0.0050
<i>Lagothrix lagotricha</i>	Ap74	0.866	0.230	45.746	28	0.0183	0.179	2.455	1	N.S.	0.0661±0.0050
	D5S111	0.821	-0.043	0.023	6	N.S.	0.037	0.016	1	N.S.	0.5602±0.0100
	D5S117	0.933	-0.190	1.088	21	N.S.	-0.062	0.117	1	N.S.	1.0000±0.0000
	D6S260	0.733	0.455	1.240	3	N.S.	0.667	2.667	1	N.S.	0.1993±0.0043
	D17S804	0.733	0.636	2.430	6	N.S.	-0.375	0.844	1	N.S.	1.0000±0.0000
	Ap68	0.429	1.000	4.000	1	0.0450	1.000	7.111	1	0.0077	0.1233±0.0089
<i>Ateles belzebuth b</i>	Ap74	0.733	0.454	1.240	3	N.S.	0.667	2.667	1	N.S.	0.5874±0.0167
<i>Ateles hybridus</i>	Ap74	0.333	-0.200	0.120	1	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	0.7698±0.0024
	D5S117	0.833	0.600	1.440	3	N.S.	-0.250	0.250	1	N.S.	0.7290±0.0143
	D8S165	0.500	0.061	0.032	4	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	0.8648±0.0132
	Ap68	0.639	0.238	28.119	6	0.0001	0.524	15.652	1	0.0001	0.0006±0.0003
<i>Ateles fusciceps</i>	Ap74	0.851	0.387	60.167	36	0.007	0.252	6.114	1	0.0134	0.0019±0.0013
	D8S165	0.500	0.023	0.006	18	N.S.	0.000	0.000	1	N.S.	0.7444±0.0096
	D17S804	0.500	0.084	0.643	14	N.S.	0.111	1.432	1	N.S.	0.7841±0.0012

oscilaron entre 0.333 (D5S111) y 0.733 (D6S260) y 0.786 (D14S51), siendo el valor promedio de heterocigosis para los nueve marcadores analizados de  $0.342 \pm 0.163$ . Todos los marcadores mostraron estar en equilibrio Hardy-Weinberg para esta especie, independientemente, de los procedimientos utilizados. Esto sugiere que, efectivamente, todos los animales analizados ( $n = 56$ ) pertenecen a un mismo taxon, *Cebus apella apella*, aunque algunos presentaran características morfológicas, además de su lugar de procedencia, típicas de *C. a. macrocephalus*, lo cual podría indicar que las diferencias genéticas entre estas dos subespecies son muy ligeras.

Ocho fueron los *Cebus apella* analizados en la colección del zoológico Jaime Duque. El único marcador polimórfico fue D5S117 con dos alelos (116 y 118 pb). La heterocigosis global promedio fue de  $0.222 \pm 0.157$ . El marcador polimórfico estuvo en equilibrio Hardy-Weinberg.

*Cebus albifrons*: Los ocho marcadores empleados para esta especie amplificaron en todos los casos. Cinco de ellos presentaron polimorfismo (62.5 %) (AP68, AP74, D5S111, D6S260 y D14S51). El que mayor número de alelos presentó fue, con diferencia, AP74 con 21 alelos diferentes. Aunque, usualmente, los alelos de microsatélites con motivos de repetición dinucleótidos varían de dos en dos, es relativamente frecuente encontrar en la literatura ejemplos de alelos que difieren en una única base nucleotídica, como es el caso aquí presentado en *Cebus albifrons* para AP74. Véanse los casos similares encontrados en *Drosophila pseudoobscura* (Noor et al., 2000), en otros Primates neotropicales (Ellsworth & Hoelzer, 1998), o en osos (*Ursus arctos*, *Ursus americanus*) (Craighead et al., 1995), solo por citar algunos. Esto ocurre porque se pueden dar inserciones de una base nucleotídica, o varias, en el interior de los motivos de repetición. Los valores de heterocigosis para los loci polimórficos oscilaron entre 0.533 (AP68) y 0.833 (D14S51), 0.933 (D5S111) y 0.987 (AP74). El valor promedio de heterocigosis para los ocho marcadores aplicados a esta especie fue de  $0.51 \pm 0.205$ , algo superior a lo encontrado en *Cebus apella*. Todos los marcadores analizados, independientemente de la metodología utilizada, estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg. Incluso, el marcador AP74 con 21 alelos presentes, algunos de ellos con frecuencias muy pequeñas, no mostró un desvío significativo respecto al citado equilibrio. Estos resultados ponen en evidencia que *Cebus albifrons* posee mayor variabilidad genética, en Colombia, que *Cebus apella*. Recordemos, y esta podría

ser una explicación lógica, que en este país neotropical la distribución geográfica de *C. albifrons* está fuertemente fragmentada. A nivel morfológico se han reconocido hasta nueve subespecies diferentes. En la parte norte y noreste de Colombia se han diferenciado seis subespecies diferentes (*C. albifrons malitiosus*, *C. albifrons cesarare*, *C. albifrons leucocephalus*, *C. albifrons pleei*, *C. albifrons versicolor* y *C. albifrons adustus*), mientras que en Los Llanos Orientales se ha determinado la presencia de *C. albifrons albifrons* y de *C. albifrons unicolor* más *C. albifrons cuscinus* en la Amazonía colombiana y en la frontera con Ecuador, respectivamente. La tenencia de animales de diversas subespecies en el seno de unas mismas poblaciones cautivas puede ser responsable de la mayor heterocigosis encontrada en *Cebus albifrons*. Sin embargo, la no existencia de desvíos significativos para ningún marcador por efecto Wahlund nos hace sospechar que la mayor parte de los animales analizados pertenecen a un mismo acervo genético representado, en este caso, por *C. albifrons versicolor*. La existencia de un rango muy amplio en el tamaño de los alelos en dos marcadores, como AP74 (alelos desde 142 a 184 pb) y D5S11 (desde 149 a 173 pb) fueron los únicos indicios del aporte diferenciador de otras subespecies (ciertos individuos analizados mostraron características morfológicas típicas de *C. a. cuscinus* y *C. a. unicolor*) en un acervo característico de *C. a. versicolor*.

La colección de *Cebus albifrons* estudiada en el zoológico de Cali ( $n = 7$ ) se caracterizó por poseer un elevado número de alelos para el marcador AP74 (8 alelos), que representa una buena fracción de los 21 alelos encontrados en la especie como un todo, y un número más moderado para el marcador D5S111 (3 alelos). La heterocigosis promedio para esta especie en esta institución fue de  $0.375 \pm 0.195$ , valor ligeramente inferior al encontrado en la especie como un todo. La heterocigosis encontrada en el marcador AP74 fue muy elevada ( $H = 0.901$ ). Todos los marcadores analizados estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg. Estos resultados indican que la colección de los ejemplares del zoológico de Cali representa una población de un único origen o con pocos orígenes geográficos diferentes contrastando con la gran cantidad de poblaciones geográficamente diferenciadas de esta especie en Colombia. El análisis de detección de cuello de botella para esta colección mostró la no existencia de diferencias significativas entre la heterocigosis esperada obtenida ( $H = 0.901$ ) y la esperada a partir del número de alelos encontrados ( $k_0 = 8$ ) para un modelo de alelos infinitos ( $H = 0.885$ ), o para un modelo "step-wise" ( $H = 0.900$ ). Igualmente, la distribución de los alelos siguió una función L nor-

mal. Se concluye, pues, que esta colección no ha pasado por un cuello de botella reciente (Tabla 3). La colección de *Cebus albifrons* del zoológico de Medellín ( $n = 15$ ) mostró menor diversidad genética que la población cautiva del zoológico de Cali (Heterocigosis promedio global =  $0.278 \pm 0.196$ ). El marcador que mostró mayor polimorfismo fue AP74, con tres alelos, estando en equilibrio Hardy-Weinberg. Considerando que el tamaño muestral analizado en Medellín fue mayor que el analizado en Cali y que su diversidad fue menor, eso abogaría a favor que la población de *Cebus albifrons* de Medellín constituye un único acervo genético probablemente procedente de Antioquia (*C. a. versicolor*). La colección de *Cebus albifrons* analizada en el zoológico Jaime Duque fue únicamente de tres animales. Sin embargo, de los siete loci microsatélites aplicados a esos individuos, cuatro resultaron polimórficos. Estos fueron los loci AP68 (dos alelos), AP74 (tres alelos), D6S260 (cuatro alelos) y D14S51 (tres alelos). La heterocigosis promedio global fue de  $0.457 \pm 0.208$ , siendo la más elevada encontrada para esta especie en cualquiera de las instituciones analizadas. Vale la pena decir que la colección de *C. albifrons* del zoológico Jaime Duque en Bogotá presenta una variabilidad morfológica muy extensa y considerable. De hecho, una hembra de *Cebus albifrons* presentó un genotipo homocigoto para un alelo de 168 pb, en el marcador AP68. El hecho que este individuo difiera en su genotipo de todos los demás ejemplares estudiados en este género (todos ellos fijados para un alelo de 166 pb) puede interpretarse como pertenencia a un acervo genético bien diferenciado, y escaso, ya que si fuera simplemente un individuo mutante para ese marcador, deberíamos esperar que fuera heterocigoto. Debemos recordar, y esta podría ser una explicación lógica, que en Colombia la distribución geográfica de *C. albifrons* está fuertemente fragmentada. A nivel morfológico, como ya se comentó, se han reconocido hasta nueve subespecies diferentes. Es posible que esa hembra pertenezca a alguna de las subespecies más raras citadas, y cuya presencia sea nula en la mayor parte de las colecciones estudiadas hasta la fecha. Por ejemplo, podría pertenecer a los taxones *C. albifrons malitiosus*, *C. albifrons adustus* o *C. albifrons cuscinus*. Sería importante poder determinar con exactitud el origen geográfico de ese individuo, y poder obtener muestras de otros ejemplares de idéntica distribución geográfica. Esta es la causa (efecto Wahlund), por la cual, se presentó un exceso de homocigotos para AP68 ( $f = 1.000$ ,  $\chi^2 = 6.750$ , 1 gdl,  $P = 0.0094$ ;  $F = 1.000$ ,  $\chi^2 = 3.00$ , 1 gdl,  $P = 0.0833$ ). Los restantes marcadores polimórficos estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg.

*Cebus capucinus*: Esta especie únicamente fue analizada para tres marcadores moleculares. Solo uno de ellos fue polimórfico (AP74) (33.3 %). Este único locus presentó cinco alelos. Todos los ejemplares analizados pertenecen a la subespecie colombiana *C. capucinus capucinus*. Tres ejemplares procedentes de la costa pacífica de Costa Rica mostraron un alelo muy diferenciado en tamaño respecto a lo encontrado en los ejemplares colombianos, lo que evidencia que cada subespecie de *C. capucinus* podría ser caracterizada por el microsatélite AP74. Este marcador, incluyendo los especímenes costaricenses, presentó una heterocigosis esperada de 0.719. El valor de heterocigosis promedio fue de  $0.239 \pm 0.17$ . El análisis del equilibrio Hardy-Weinberg para AP74 mostró, efectivamente, al introducir los ejemplares de Costa Rica, un exceso significativo de homocigotos con algunos procedimientos analíticos ( $f = 0.3045$ ). Por el contrario, cuando los ejemplares centroamericanos fueron extraídos del análisis, se canceló la significación estadística (test exacto,  $P = 0.1936 \pm 0.0143$  con  $F_{is} = 0.10$  y  $f = 0.112$ , respectivamente). Esto pone de manifiesto que, efectivamente, al tomarse de forma conjunta especímenes provenientes de dos subespecies diferentes (*C. c. capucinus* y *C. c. imitator*) se produce un exceso de homocigotos debido a efecto Wahlund.

Once *Cebus capucinus* conformaron la colección de esta especie en el zoológico de Cali. AP74 presentó cuatro alelos diferentes de los 5 encontrados para la especie como un todo. La heterocigosis promedio global fue de  $0.253 \pm 0.179$ , indiferenciable de la encontrada globalmente. Este único marcador polimórfico estuvo en equilibrio Hardy-Weinberg. A diferencia de las otras especies presentes en esa institución, *Cebus capucinus* sí parece mostrar una tendencia de haber pasado por un cuello de botella reciente. Aunque únicamente pudimos aplicar este análisis al marcador AP74, la heterocigosis esperada obtenida ( $H = 0.758$ ) fue superior tanto a la obtenida a partir del número de alelos ( $k_0 = 4$ ) con un modelo de alelos infinitos ( $H = 0.664$ ), como con un modelo "step-wise" ( $H = 0.702$ ). Aunque los tests de significación no alcanzaron el valor 0.05, por el número de marcadores tan pequeño empleado, el descriptor gráfico mostró una distribución sesgada. Se recomienda, por lo tanto, intentar aumentar la variabilidad genética en el seno de esta población cautiva. No podemos saber, sin embargo, si esta tendencia hacia un cuello de botella se ha producido en la naturaleza, antes de la formación de esta población en cautiverio (recordemos que es la especie de *Cebus* que posee una zona de distribución geográfica más

restringida en Colombia), o en el momento de la formación de la misma en cautiverio.

*Saimiri sciureus*: De los nueve marcadores empleados para esta especie, uno no amplificó (AP68), y seis fueron polimórficos (AP74, D5S111, D6S260, D8S165, D14S51 y D17S804) (75 %). El que presentó mayor número de alelos fue AP74, con 10 alelos. Las heterocigosis individuales oscilaron entre 0.25 (D5S111) a 0.846 (AP74) y 1 (D8S165). El valor de la heterocigosis promedio fue de  $0.521 \pm 0.183$ . Este nivel promedio de heterocigosis resultó muy similar al encontrado en *Cebus albifrons*. Los análisis del equilibrio Hardy-Weinberg mostraron la no existencia de equilibrio Hardy-Weinberg para algunos marcadores. Tal es el caso de AP74 y de D6S260. Los 47 individuos analizados pertenecían morfológicamente, de forma clara, a las tres subespecies reconocidas en Colombia, *S. s. albigena*, *S. s. cassiquiarensis* y *S. s. macrodon*. Mientras que para los restantes marcadores no se produjo exceso de homocigotos (AP40, D5S111, D5S117, D8S165, D14S51, D17S804), porque seguramente no existen diferencias importantes para ellos entre las tres subespecies analizadas, el exceso de homocigotos de AP74 y D6S260 puede deberse a efecto Wahlund, indicando la existencia de diferencias substanciales para esos dos marcadores entre las tres subespecies de *Saimiri* analizadas. Esto es, AP74 y D6S260 pueden ser utilizados como marcadores discriminantes entre las tres subespecies comentadas de *Saimiri*. El tamaño relativamente diferente de los alelos encontrados para AP74 (de 145 a 163 pb), al igual que los encontrados para D17S804 (de 148 a 174 pb) y para D8S165 (de 150 a 170 pb) soportan, adicionalmente, esta conclusión.

La colección de *Saimiri sciureus* del zoológico de Cali ( $n = 8$ ) se caracterizó por poseer siete alelos, de los 10 detectados para la especie como un todo, para AP74, dos alelos para D6S260 y cinco alelos para D14S51. Su heterocigosis promedio fue de  $0.463 \pm 0.200$ , la cual no difirió significativamente del valor global encontrado para la especie total, y algunos marcadores, como AP74 ( $H = 0.850$ ) y D14S51 ( $H = 0.933$ ) presentaron niveles de diversidad especialmente elevados. Dos marcadores (AP74 y D6S260) se desviaron significativamente del equilibrio Hardy-Weinberg por exceso de homocigotos (AP74:  $f = 0.4107$ ,  $\chi^2 = 8.097$ , 1 gdl,  $P = 0.0044$ ;  $F = 0.3725$ ,  $\chi^2 = 33.680$ , 21 gdl,  $P = 0.0392$ ; test exacto,  $P = 0.0026 \pm 0.0020$ ,  $F_{is} = 0.429$ ; D6S260:  $f = 1.000$ ,  $\chi^2 = 6.750$ , 1 gdl,  $P = 0.0094$ ). Este exceso de homocigotos puede explicarse por efecto Wahlund por

la existencia de, al menos, dos subespecies (*S. sciureus macrodon* y *S. sciureus albigena*) en el seno de esta población cautiva. Ya que ninguna de las dos subespecies parece estar en un peligro de extinción, sería recomendable separarlas reproductivamente. Por el contrario, si los especímenes analizados pudieran clasificarse, sin ninguna duda, en el seno de un único morfotipo, eso mostraría que ésta es una población en cautiverio con alta diversidad génica, en la que se podrían programar cruzamientos para maximizar el grado de heterosis en el seno de la misma y ser un reservorio de variabilidad genética para esta especie. El análisis para detectar un presunto cuello de botella, utilizando el microsatélite AP74 para la población en cautiverio de esta especie en el zoológico de Cali, mostró la inexistencia de diferencias significativas entre la heterocigosis esperada ( $H = 0.85$ ) y la esperada a partir del número de alelos observados ( $k_o = 7$ ), ya sea con el modelo mutacional de los alelos infinitos (MMAI) ( $H = 0.824$ ), o con el modelo mutacional step-wise (MMS) ( $H = 0.853$ ). La distribución de los alelos siguió la forma L. Es decir, esta población de *Saimiri* no ha pasado recientemente por ningún cuello de botella (Tabla 3).

*Saimiri boliviensis*. El número de individuos estudiados de esta especie, cuatro, es muy pequeño para sacar conclusiones definitivas, aunque al analizar paralelamente algunos individuos híbridos con *Saimiri sciureus macrodon*, todos ellos de una misma institución (Proyecto de Reproducción de Primates no humanos. IVITA, Iquitos), se determinó un aspecto importante. De los dos marcadores (AP40, AP74) analizados, únicamente AP74 presentó polimorfismo. La heterocigosis encontrada para este marcador fue de 0.333. Aunque no se encontró ningún desvío del equilibrio Hardy-Weinberg, para el mismo, *S. boliviensis peruvensis* parece caracterizarse por poseer alelos algo más pequeños para el citado marcador que los encontrados, en frecuencias más elevadas, para *Saimiri sciureus*. De este modo, el locus microsatélite AP74 puede servir para discriminar entre ambas formas de *Saimiri*, lo cual es muy importante para el citado programa de reproducción en cautiverio, donde llegan animales de ambas especies, en muchas ocasiones, con características morfológicas intermedias (posibles híbridos en la naturaleza).

*Aotus nancymae* : Los nueve individuos analizados, todos ellos procedentes de Iquitos, presentaron dos loci polimórficos (AP68, AP74) de los tres empleados (66.6 % de polimorfismo). El locus AP74 fue el que presentó un mayor número de alelos. La heterocigosis esperada

**Tabla 3.** Análisis para la detección de posibles cuellos de botella recientes, para diversas especies de Primates neotropicales, en las poblaciones en cautiverio de tres zoológicos colombianos y de un centro de Primatología (IVITA) peruano. Ko = número de alelos detectados para un determinado marcador microsatélite en una determinada población en cautiverio. He = Heterocigosis esperada obtenida. Heq = Heterocigosis esperada a partir del número de alelos determinado. SD = Desviación estándar de la heterocigosis esperada a partir del número de alelos determinados. TS = probabilidad obtenida a partir del test de los signos. TDE = probabilidad obtenida a partir del test de las diferencias estandarizadas. TW = probabilidad obtenida a partir del test de Wilcoxon. MAI = Modelo mutacional de los alelos infinitos. MSW = Modelo mutacional "step-wise".

Especies	Marcadores	Ko	He		Heq	SD	TS	TDE	TW	Descriptor Gráfico	C. Botella
Zoológico de Cali											
Saimiri sciureus	AP74	7	0.850	MAI	0.824	0.053	0.634	0.315	0.500	Forma L	NO
				MSW	0.853	0.032	0.432	0.459	0.500		
Cebus albifrons	AP74	8	0.901	MAI	0.885	0.032	0.659	0.309	0.500	Forma L	NO
				MSW	0.900	0.022	0.654	0.481	0.500		
Cebus capucinus	AP74	4	0.758	MAI	0.664	0.097	0.270	0.169	0.250	Modo sesgado	Probable
				MSW	0.702	0.079	0.301	0.242	0.250		
Zoológico de Medellín											
Alouatta seniculus	AP68	3	0.708	MAI	0.485	0.137	0.007	0.081	0.125	Modo sesgado	SI
				MSW	0.537	0.122	0.017	0.080	0.125		
Ateles fusciceps	AP68	2	0.55	MAI	0.346	0.137	0.072	0.062	0.125	Modo sesgado	SI
				MSW	0.368	0.137	0.072	0.085	0.125		
Zoológico de Barranquilla											
Ateles fusciceps	AP68	4	0.699	MAI	0.593	0.119	0.237	0.185	0.250	Modo sesgado	

de ambos marcadores fue 0.125 y 0.700, respectivamente. La heterocigosis esperada promedio ascendió a  $0.275 \pm 0.152$ . Mientras que el marcador AP68 mostró, independientemente de los procedimientos utilizados, siempre estar en equilibrio Hardy-Weinberg, el marcador AP74 mostró claramente no estar en equilibrio Hardy-Weinberg por un exceso de homocigotos. Este exceso de homocigotos podría explicarse a través de dos mecanismos diferentes. El proyecto de reproducción de Primates no humanos en el IVITA de Iquitos se caracteriza por criar, en forma masiva, dos especies de *Aotus*, *A. nancymae* y *A. vociferans*, para proveer de animales a centros biomédicos, especialmente norteamericanos. Como el número obtenido de reproductores inicialmente en la naturaleza es limitado, este resultado podría deberse a endogamia. Pero, también, podría estar dándose efecto Wahlund porque los reproductores provienen de diferentes localidades, o, incluso, porque algunos ejemplares de *A. vociferans*, hubieran sido clasificados morfológicamente como *A. nancymae*. Por otra parte, dos ejemplares pertenecientes a la taxa *Aotus lemurinus griseimembra* de Colombia fueron analizados para los mismos tres marcadores que *Aotus nancymae*. Dos de ellos, AP68 y AP74 distinguieron a ambas especies. Mientras que la mayor parte de los *A. nancymae* estuvieron fijados para un alelo de 166 pb, para AP68, los dos animales colombianos estuvieron fijados para un alelo de 168 pb. Igualmente, para AP74, los ejemplares de procedencia peruana presentaron alelos

impares, mientras que los animales colombianos presentaron dos alelos pares.

Cabría añadir que el análisis de cuello de botella no fue muy claro para este taxón. Mientras que los tests de significación estadística no resultaron significativos, el descriptor gráfico presentó una función sesgada, típica de las poblaciones que han pasado recientemente por un cuello de botella (Tabla 3). En estos momentos hemos ampliado el número de muestras de esta especie para poder determinar, en un futuro, la situación real de esta población en cautiverio.

*Saguinus oedipus*: Se analizaron tres marcadores (AP40, AP68 y AP74), de los que AP68 y AP74 fueron polimórficos (66.6 %). AP74 fue el marcador que presentó mayor número de alelos. Los valores de heterocigosis para cada uno de esos dos marcadores fueron 0.485 y 0.733, respectivamente. La heterocigosis promedio fue  $0.406 \pm 0.152$ , valor no demasiado bajo para una especie en peligro como es ésta. Ninguno de los marcadores difirió significativamente de las proporciones esperadas en equilibrio Hardy-Weinberg.

*Saguinus leocopus*: De los tres marcadores aplicados para esta especie (AP40, AP68 y AP74), únicamente dos fueron polimórficos (AP68 y AP74) (66.6 %). Ambos presentaron un número muy limitado de alelos, dos para AP68 y dos para AP74. La heterocigosis

esperada, para cada uno de esos marcadores, fue 0.25 y 0.5, respectivamente. La heterocigosis promedio para los tres marcadores fue  $0.25 \pm 0.102$ , ligeramente inferior a la encontrada en *Saguinus oedipus*. Ninguno de los marcadores polimórficos difirió con significación estadística del equilibrio Hardy-Weinberg.

*Saguinus geoffroyi*: Únicamente el marcador AP74 fue polimórfico para esta especie de los tres aplicados en ella (AP40, AP68 y AP74) (33.3 %). AP74 mostró dos alelos. La heterocigosis de este marcador fue 0.5, mientras que la heterocigosis conjunta para los tres marcadores fue  $0.166 \pm 0.118$ . AP74 estuvo en equilibrio Hardy-Weinberg. Como se puede comprobar las tres especies de *Saguinus* de la Colombia septentrional, presentan alelos en un rango de tamaño muy similar, si no idéntico, lo que es un aporte en favor a las fuertes relaciones filogenéticas entre ellas. Este resultado está en concordancia con lo mostrado mediante rasgos morfológicos por Hershkovitz (1977) y Moore & Cheverud (1992) y con la secuenciación de la región mitocondrial D-loop y el gen citocromo b (Jacobs et al., 1995, 1999).

*Alouatta seniculus*: De los cuatro marcadores aplicados a esta especie, tres fueron polimórficos (AP6, AP68 y AP74) (75 %). El que mayor número de alelos presentó, cinco, fue AP68. Las heterocigosis oscilaron entre 0.5 (AP6) y 0.774 (AP68), con una heterocigosis promedio de  $0.469 \pm 0.144$ . Los tres marcadores referidos estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg. El hecho que, en general, no existan desviaciones significativas del ya citado equilibrio es un aporte en favor de la existencia de una única subespecie de esta especie en Colombia, *Alouatta seniculus seniculus*. Sin embargo, en un estudio reciente se observa una cierta heterogeneidad significativa entre poblaciones naturales de *A. seniculus seniculus* procedentes de diversas regiones de Colombia (Ruiz-García et al., 2007b).

La heterocigosis promedio de esta especie en el zoológico de Cali fue de  $0.444 \pm 0.171$ , valor que no difirió del encontrado para la especie como un todo. Todos los marcadores estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg para esta especie en ese zoológico. Esta especie ( $n = 8$ ), analizada para tres marcadores en el zoológico de Medellín, mostró polimorfismo en dos marcadores, AP68 (con tres alelos) y AP74 (con tres alelos). La heterocigosis promedio global fue de  $0.469 \pm 0.167$ , siendo este valor indiferenciable del de la especie global y del obtenido en el zoológico de Cali. Ambos marcadores estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg. Uno de los marcadores (AP68) insinuó que esta colección

proviene de un reciente cuello de botella. La heterocigosis esperada obtenida ( $H = 0.708$ ) fue significativamente más elevada que la esperada a partir del número de alelos encontrados ( $k_0 = 3$ ) para un modelo de alelos infinitos ( $H = 0.485$ ) y, también, para un modelo "step-wise" ( $H = 0.537$ ). Adicionalmente, la distribución de las frecuencias alélicas mostró una función sesgada, indicativo de que esta colección ha sufrido un reciente cuello de botella (Tabla 3).

*Lagothrix lagotricha*: Esta es una de las especies colombianas de Primates en situación más vulnerable ya que es cazada intensivamente por colonos e indígenas (Ruiz-García, 2005). Se analizaron nueve marcadores microsatélites en esta especie. Seis de ellos (AP6, AP74, D5S111, D5S117, D6S260, y D17S804) fueron polimórficos (66.6 %). Los dos marcadores que presentaron mayor número de alelos fueron, respectivamente, AP74, con ocho alelos y D5S117 con siete alelos. Los valores individuales de heterocigosis esperada oscilaron entre 0.733 (D6S260 y D17S804) y 0.866 (AP74) y 0.933 (D5S117). El valor promedio de heterocigosis para los nueve marcadores analizados fue  $0.538 \pm 0.192$ . Este es un valor de diversidad genética considerable. Ninguno de los seis marcadores analizados difirió con significación estadística de las proporciones esperadas en equilibrio Hardy-Weinberg, aunque dos marcadores presentaron un cierto exceso de homocigotos, cercano a la significación estadística (AP6 y AP74). De los 15 *Lagothrix lagotricha* analizados, al menos, uno mostró las características morfológicas típicas de la subespecie en estado crítico *L. l. lugens*, endémica de Colombia. Únicamente un locus (D5S117) diferenció de forma radical ambas subespecies de *Lagothrix* en Colombia. El individuo *lugens* fue heterocigoto, para este marcador, 167/181 pb. Ambos alelos son considerablemente mayores que los encontrados para los ejemplares típicamente *L. lagotricha lagotricha* (oscilaron entre 141 y 153 pb). Luego, D5S117 puede ser sugerido como útil para diferenciar esas dos formas subespecíficas de *L. lagotricha*. Esta especie, aún estando en una situación vulnerable, parece poseer una buena variabilidad genética, al menos para la subespecie *L. l. lagotricha*.

Tres *Lagothrix lagotricha* compusieron la colección del zoológico de Cali. Los marcadores, que presentaron polimorfismo, fueron AP6 (2 alelos), AP74 (tres alelos), D5S117 (dos alelos) y D17S804 (dos alelos). La heterocigosis promedio total para esos tres animales fue de  $0.372 \pm 0.138$ , inferior a la encontrada a nivel global para la especie. Esos marcadores estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg. El pequeño número de

individuos de esta especie no permitió analizar la posible existencia de cuello de botella en esta colección.

*Ateles belzebuth belzebuth*: De los tres marcadores aplicados a este taxón, dos fueron polimórficos (AP68 y AP74) (66.6 %). El que mayor número de alelos presentó fue AP74, con tres alelos. Las heterocigosis individuales de cada uno de esos dos marcadores fueron 0.429 y 0.733, mientras que la heterocigosis promedio global fue de  $0.387 \pm 0.150$ . Mientras que AP74 estuvo en equilibrio Hardy-Weinberg, AP68 no lo estuvo por un exceso significativo de homocigotos. Como se comentará, a continuación, *Ateles* constituye uno de los casos más problemáticos de las poblaciones en cautiverio de Primates neotropicales en Colombia.

La colección de *Ateles belzebuth* del zoológico de Medellín ( $n = 5$ ) mostró a AP68 (dos alelos) y a AP74 (tres alelos) como los marcadores polimórficos. Su heterocigosis promedio global fue de  $0.411 \pm 0.153$ , no diferenciable del valor global para la especie. Estos marcadores estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg.

*Ateles hybridus*: De los seis marcadores analizados, tres de ellos fueron polimórficos (AP74, D5S117 y D8S165) (50 %). El que presentó mayor número de alelos fue D5S117, con tres. El rango de oscilación de las heterocigosis individuales fue de 0.333, para AP74, a 0.833, para D5S117, mientras que la heterocigosis promedio global fue  $0.278 \pm 0.157$ . Todos los marcadores estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg.

*Ateles fusciceps*: De los seis marcadores empleados en este taxón, cuatro (AP68, AP74, D8S165 y D17S804) resultaron polimórficos (66.6 %). El que mayor número de alelos presentó fue AP74, con nueve. Los valores de heterocigosis esperadas individuales para los loci polimórficos oscilaron entre 0.5 (para D8S165 y D17S804) y 0.851 (para AP74). El valor de heterocigosis promedio multilocus fue de  $0.415 \pm 0.158$ . Los dos marcadores que presentaron un mayor número de alelos, AP68 y AP74, no estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg por un fuerte exceso de homocigotos. Algunos zoológicos colombianos clasifican a todos los *Ateles* de coloración negra que llegan a ellos como *Ateles fusciceps* (zoológico de Cali y de Barranquilla) y otros como *Ateles paniscus* (zoológico de Medellín, Jaime Duque, o Pereira). Especialmente, el marcador AP74 parece poner de manifiesto que, efectivamente, existen dos taxones diferentes en el seno de las poblaciones cautivas de *Ateles* negros en Colombia. Se observa que algunos individuos, de los 34 estudiados, poseen alelos de 120, 130, 132 pb, de los mismos tamaños que se encuentran, por ejemplo en *A. belzebuth* y *A. hybridus*.

Los animales capturados en la naturaleza (Alto Sinú) pertenecientes a la distribución geográfica de *Ateles fusciceps robustus* poseyeron alelos de esos tamaños. Es muy posible que los animales portadores de otros alelos mayores, 156, 158, 160, 168, 170 pb, pertenezcan a *Ateles chamek* o a un acervo genético de *A. fusciceps robustus* diferenciado del que se encuentra en Córdoba, Sucre y la costa Atlántica, en general (Ruiz-García et al., 2006). El análisis de animales del rango de distribución geográfico de este último taxón en Perú o Bolivia, indudablemente, ayudará a resolver esta incógnita. Lo que resulta interesante poner de manifiesto es que existen individuos heterocigotos para alelos grandes y pequeños, lo que podría significar que son híbridos entre *Ateles fusciceps robustus* y *Ateles chamek* o son híbridos entre diferentes acervos genéticos de *A. f. robustus* (por ejemplo, uno estrictamente chocoano y otro hibridado con *A. hybridus* en el margen izquierdo del río Magdalena; Ruiz-García et al., 2006). Este es el caso del individuo 2 del zoológico de Medellín (130/168 pb), o el individuo "Chiquí" del zoológico de Barranquilla (132/170 pb). Esto significaría que se deben extremar los cuidados con los *Ateles* morfológicamente negros en los zoológicos colombianos ya que se estarían obteniendo híbridos entre taxones bien diferenciados a nivel molecular (Collins, 1999; Collins & Dubach, 2000; Ruiz-García et al., 2006), procedentes de áreas geográficas muy diferentes, posiblemente adaptados a condiciones ecológicas, también, diferentes. Resulta claro que AP74 se reveló como un marcador extremadamente útil para diferenciar diversos taxones de Primates neotropicales de difícil discriminación morfológica.

La colección de *Ateles fusciceps* del zoológico de Cali estuvo compuesta por 10 ejemplares. Los marcadores que presentaron polimorfismo fueron AP68, con dos alelos y AP74, con tres alelos (158, 160 y 168 pb). La heterocigosis promedio de esta colección fue de  $0.50 \pm 0.179$ . Ambos marcadores estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg. Esta muestra procede del área central del Chocó colombiano y podría representar un acervo genético diferenciado del de los *A. f. robustus* cercanos al río Magdalena y costa Atlántica colombiana.

La colección de *Ateles fusciceps* del zoológico de Medellín (en esa colección se les tiene clasificados como *Ateles paniscus*) ( $n = 11$ ) mostró su mayor grado de polimorfismo en los marcadores AP68 (con dos alelos) y AP74 (con tres alelos de 130, 160 y 168 pb; la existencia de un alelo de 130 pb puede indicar hibridación con *A. hybridus*). Su heterocigosis promedio global fue de  $0.429 \pm 0.156$ , indiferenciable del valor

encontrado en otras colecciones y globalmente. Ambos marcadores polimórficos estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg. Aunque el resultado del posible cuello de botella en esta colección no es muy concluyente, pareciera existir una tendencia a que, efectivamente, éste se haya dado, ya que la heterocigosis esperada obtenida ( $H = 0.556$ ), para AP68, es superior a la obtenida a partir del número de alelos detectados ( $k_0 = 2$ ) para el modelo de alelos infinitos ( $H = 0.346$ ) y para el modelo "step-wise" ( $H = 0.368$ ) (por ejemplo, el test de las diferencias estandarizadas ofreció valores de 0.0625 y 0.0859, respectivamente). Adicionalmente, el descriptor gráfico mostró una función sesgada de la distribución de las frecuencias alélicas, lo cual sugiere la existencia de un cuello de botella en esta población cautiva (Tabla 3).

La colección más interesante estudiada en el zoológico de Barranquilla fue la de *Ateles fusciceps* ( $n = 10$ ). Los dos marcadores, que mostraron mayor variabilidad alélica, fueron AP68 y AP74. El primer marcador presentó cuatro alelos, mientras que el segundo presentó cinco alelos. La heterocigosis promedio global en esta colección fue de  $0.455 \pm 0.161$ , similar a la encontrada globalmente y en los zoológicos de Cali y Medellín. Ambos marcadores polimórficos no estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg, por un significativo exceso de homocigotos (AP68:  $f = 0.5347$ ,  $\chi^2 = 7.720$ , 1 gdl,  $P = 0.0055$ ;  $F = 0.3271$ ,  $\chi^2 = 14.00$ , 6 gdl,  $P = 0.0296$ ; test exacto,  $P = 0.0114 \pm 0.0019$ ,  $F_{is} = 0.379$ ; AP74:  $F = 0.3333$ ,  $\chi^2 = 20.00$ , 10 gdl,  $P = 0.0293$ ; test exacto,  $P = 0.0383 \pm 0.0072$ ,  $F_{is} = 0.429$ ). El hecho que esta colección sea la que posea mayor variabilidad genética de todas las analizadas para el género *Ateles*, pero, que a su vez, presente un claro exceso de homocigotos, hace pensar que, en realidad, coexisten, al menos, dos acervos genéticos bien diferenciados. Si se han importado hacia Barranquilla *Ateles* fenotípicamente de coloración negra desde Leticia

(Amazonas), que habrían llegado allí desde la ribera peruana del río Amazonas (*A. chamek*), y se han mezclado con los *A. fusciceps robustus* de la costa Atlántica, esto podría explicar el exceso de homocigotos encontrado en esta colección. Más factible todavía, es que se hayan cruzado en la naturaleza, en la costa Atlántica y en el contexto del río Magdalena, *A. fusciceps robustus* y *A. hybridus* y que esos híbridos hayan heredado el carácter negro como dominante y, por lo tanto, hayan sido clasificados como *A. fusciceps robustus* fenotípicamente. Esto se ve refrendado por la existencia de alelos de tamaños muy diferentes en el seno de AP74, por ejemplo. Sin embargo, únicamente se podrá diferenciar entre ambas hipótesis cuando se dispongan de muestras de *Ateles chamek* de Perú y de Bolivia para tener una más completa definición sistemática de las formas de *Ateles* cautivas colombianas.

Con todo lo dicho, se observa que las especies de Primates colombianos, que presentaron mayores niveles de variabilidad genética (exceptuando *Ateles fusciceps* por la posibilidad de que englobado en este taxón existan individuos de *Ateles chamek* o híbridos con *A. hybridus*), son *Lagothrix lagotricha* ( $H = 0.538$ ), *Saimiri sciureus* ( $H = 0.521$ ), *Cebus albifrons* ( $H = 0.51$ ), *Alouatta seniculus* ( $H = 0.469$ ) y *Saguinus oedipus* ( $H = 0.406$ ), aun estando la primera y la última especie en situaciones demográficas peligrosas. Cabe resaltar que, de este grupo comentado, dos son especies monotípicas en Colombia, *Alouatta seniculus seniculus* y *Saguinus oedipus*. Previamente, otros autores demostraron que *Alouatta seniculus* es una de las especies de Primates neotropicales que presenta mayor diversidad genética (Sampaio et al., 1996). Un reciente análisis con microsatélites muestra que *Alouatta seniculus* fue la especie del género con una mayor variabilidad genética al ser comparado con *A. macconnellii*, *A. palliata* y *A. caraya* (Ruiz-García et al., 2007a).

## CONCLUSIONES

Las colecciones de *Cebus apella* de los zoológicos colombianos parecen bastante homogéneas para los marcadores estudiados coincidiendo con la supuesta existencia de una única subespecie de esta especie en Colombia. Sin embargo, más muestras procedentes de la naturaleza deben ser estudiadas para sustentar plenamente esta hipótesis.

Las colecciones de *Alouatta seniculus* de los zoológicos de Cali y Antioquia parecen muy similares genéticamente pudiendo refrendar la existencia de un único acervo

genético de esta especie en Colombia (*Alouatta seniculus*). Pero, al igual que en el caso anterior, más muestras procedentes de la naturaleza deben ser estudiadas antes de concluir la existencia de un único acervo genético para esta especie en Colombia.

Las poblaciones cautivas de *Cebus capucinus* y *Ateles fusciceps* en el zoológico de Cali y de *Alouatta seniculus* y *Ateles fusciceps* en el zoológico de Medellín presentan ligeros síntomas de haber pasado por un cuello de botella reciente, aunque no de una forma poderosa. Se



recomienda incorporar otros ejemplares reproductores externos en el seno de esas poblaciones para evitar los problemas derivados de los cuellos de botella.

A priori la especie colombiana estudiada con mayor cantidad de subespecies morfológicas reconocidas es *Cebus albifrons*. Por lo tanto es la especie en la que se debería esperar mayor mezcla de acervos genéticos en los zoológicos, los cuáles se caracterizan por recibir especímenes sin origen geográfico reconocido. La población genéticamente más homogénea analizada fue la del zoológico de Medellín, lo que indica que esa población cautiva ha sido reclutada de un único acervo genético, mientras que la del zoológico Jaime Duque parece ser la compuesta por ejemplares de procedencia geográfica más diversa. Por lo tanto, la población de *C. albifrons* de Medellín es recomendable como una población reproductora representante del acervo genético que representa.

El exceso de homocigotos detectado en las colecciones de *Saimiri sciureus*, por ejemplo en el zoológico de Cali, pone de manifiesto que en las colecciones en cautiverio se mezclan ejemplares correspondientes a las tres subespecies reportadas para Colombia. Se aconseja separar reproductivamente esos taxones para conservar las particularidades genéticas de cada uno de ellos.

*Ateles fusciceps* muestra un particular fenómeno de importancia genética y conservacionista. Únicamente la población cautiva del zoológico de Cali presenta una colección que parece no estar hibridada con otros taxones de *Ateles*. Esa población originada a partir de un propágulo de animales procedentes del Chocó puede servir de reservorio para la forma chocona de *Ateles fusciceps robustus*. Por el contrario, la población cautiva de Medellín y, especialmente, de Barranquilla parece estar hibridada con *A. chamek* (poco probable) o *A. hybridus* (más probable). En el primer caso, esa hibridación se habría dado de forma artificial, más en el segundo caso se habría dado de forma natural, lo que constituiría un resultado evolutivo de extrema importancia. De las tres especies de *Ateles* estudiadas, *A. hybridus*, fue la que mostró una menor variabilidad genética y precisaría de un programa de conservación más activo.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a los asistentes de los diversos zoológicos, cuyas poblaciones cautivas de Primates fueron analizadas, por su ayuda abnegada en la obtención de las muestras.

Ciertos microsatélites mostraron una importante capacidad discriminatoria entre taxones de primates de difícil diferenciación morfológica o de condición taxonómica imprecisa. Ap74 mostró, al menos, 21 alelos diferentes y es una herramienta notable para la diferenciación de diversos acervos y subespecies de *Cebus albifrons*. Igualmente, este marcador distinguió los *Cebus capucinus* colombianos y de Costa Rica, pertenecientes a diferentes subespecies morfológicas. También diferentes especies de *Aotus* fueron distinguidas por este marcador. En idéntico sentido, D5S117 diferenció ejemplares de *Lagothrix lagotricha lagotricha* y de *Lagothrix lagotricha lugens*. De esta forma queda establecida la importancia fundamental de aplicar estos marcadores moleculares a las colecciones de primates en cautiverio para mejorar el manejo de las mismas.

En estos momentos, en el seno del grupo del Laboratorio de Genética de Poblaciones Molecular-Biología Evolutiva se está llevando a cabo el análisis de otros marcadores microsatélites de ADN nuclear, RFLPs, RAPDs y secuenciación de genes mitocondriales en unas 50 especies de Primates neotropicales (*Saguinus leocopus*, *S. oedipus*, *S. geoffroyi*, *S. fuscicollis*, *S. nigricollis*, *S. mystax*, *S. labiatus*, *S. bicolor*, *S. midas*, *Callithrix geoffroyi*, *C. kuhlii*, *C. penicillata*, *C. flaviceps*, *C. jacchus*, *C. aurita*, *C. argentata*, *Saimiri sciureus*, *S. boliviensis*, *S. ustus*, *S. oestedi*, *Cebus apella*, *C. albifrons*, *C. capucinus*, *Callicebus moloch*, *C. torquatus*, *Aotus lemurinus*, *A. brumbacki*, *A. trivirgatus*, *A. zonalis*, *A. vociferans*, *A. nancymae*, *A. azarae*, *Cacajao calvus*, *Pithecia pithecia*, *P. monachus*, *Alouatta seniculus*, *A. macconnellii*, *A. sara*, *A. caraya*, *A. palliata*, *A. pigra*, *Ateles geoffroyi*, *A. fusciceps*, *A. hybridus*, *A. belzebuth*, *A. chamek*, *A. marginatus*, *A. paniscus*, *Lagothrix lagotricha*, *Brachyteles arachnoides*) tanto de Colombia como del resto de Latinoamérica, para conocer en profundidad cuál es el estado de la diversidad génica de esas especies de Primates, tanto en cautiverio como en estado natural, para poder formular estrategias de conservación genética y para poder desentrañar relaciones filogenéticas entre los taxones citados.

Agradecer, también, la ayuda económica ofrecida por la Decanatura y Vicerrectoría de la Pontificia Universidad Javeriana para llevar a cabo este tipo de investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amos, B., C. Schlotterer., D. Tautz. 1993. Social structure of pilot whales revealed by analytical DNA profiling. *Science* 260: 670-672.
- Barroso C. M. L., Schneider M. P. C., Sampaio M. I. C. And Salzano F. M. 1990. Esterase D in Brazilian *Saguinus midas niger*- Results and comparison with previous studies in Anthroidea. *American Journal of Primatology* 22: 215-219.
- Collins, A. C. 1999. Species status of the Colombian spider monkey, *Ayeles belzebuth hybridus*. *Neotropical Primates* 7 : 39-41.
- Collins, A. C., J. M. Dubach. 2000. Phylogenetics relationships of spider monkeys (*Ateles*) based on mitochondrial DNA variation. *International Journal of Primatology* 21: 381-420.
- Cornuet J. M., G. Luikart. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144: 2001-2014.
- Craighead, L., D. Paetkau, H. V. Reynolds, E. R. Vyse, C. Strobeck. 1995. Microsatellite analysis of paternity and reproduction in Arctic grizzly bears. *Journal of Heredity* 86: 255-261.
- Doyle J. J., J. L. Doyle. 1987. DNA extraction by using DTAB-CTAB procedures. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-17.
- Ellesworth, J. A., G. A. Hoelzer. 1998. Characterization of microsatellite loci in a New World Primate, the mantled howler monkey (*Alouatta palliata*). *Molecular Ecology* 7: 657-658.
- Froehlich, J. W., J. Supriatna, P. H. Froehlich. 1991. Morphometric analyses of *Ateles*: Systematic and biogeographic implications. *American Journal of Primatology* 25: 1-22.
- Garcia-moreno, J., M. S. Roy., E. Geffen., R. Wayne. 1996. Relationships of genetic purity of the endangered Mexican wolf based on analysis of Microsatellite loci. *Conservation Biology* 10: 376-384.
- Gottelli, D., Sillero-zubiri, C., G. D. Applebaum., M. S. Roy, D. J. Girman., J. Garcia-moreno., E. A. Ostrander., R. K. Wayne. 1994. Molecular genetics of the most endangered canid: the Ethiopian wolf, *Canis simensis*. *Molecular Ecology* 3: 301-312.
- Greth, A., P. Sunnucks, M. Vassart, H. Stanley. Genetic Management of an Arabian oryx (*Oryx leucoryx*) population without known pedigree. *Proceedings of Ungulate* 91. September, 1991, Toulouse, France.
- Harada M. L; Schneider H; Schneider M. P. C; Sampaio I; Czelusniak J; Goodman M. 1995. DNA evidence on the phylogenetic systematics of New World monkeys: Support for the sister-grouping of *Cebus* and *Saimiri* from two unlinked nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4: 331-349.
- Hernandez-camacho, J., R. W. Cooper. 1976. The nonhuman primates of Colombia. En R. W. Throington, Jr, P. G. Helne (Eds). *Neotropical Primates: Field studies and conservation*. National Academy of Sciences, Washington, D. C., p. 35-69.
- Hershkovitz, P. 1977. *Living New World Monkeys (Platyrrhini) with an introduction to Primates*. Vol. 1. University of Chicago Press, Chicago.
- Hershkovitz, P. 1984. Taxonomy of squirrel monkeys genus *Saimiri* (Cebidae, Platyrrhini): A preliminary report with description of a hitherto unnamed form. *American Journal of Primatology* 7: 155-210-
- Horovitz, I., R. Zardoya, A. Meyer. 1998. Platyrrhine systematics: a simultaneous análisis of molecular and morphological data. *American Journal of Physical Anthropology* 106: 261-281.
- Jacobs, S. C., A. Larson, J. M. Cheverud. 1995. Phylogenetic relationships and orthogenetic evolution of coat color among tamarins (genus *Saguinus*). *Systematic Biology* 44: 515-532.
- Jacobs, S. C., A. Larson, J. M. Cheverud. 1999. Historical biogeography of Tamarins, genus *Saguinus*: the molecular phylogenetic evidence. *American Journal of Physical Anthropology* 108: 65-89.
- Kimura, M., J. F. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49: 725-738.

- Li, C.c., Horvitz, D.g. 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *Amer. J. Hum. Genet.*, 5: 107-117.
- Luikart, G., J. M. Cornuet. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology* 12: 228-237.
- Luikart, G., F. W. Allendorf, B. Sherwin, J. M. Cornuet. 1998. Distortion of allele frequency distribution provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity* 89: 238-247.
- Malgrem L. A. 1979. Empirical population genetics of Golden Mantled Howling Monkeys *Alouatta palliata* in relation to population structure, social dynamics and Evolution. PhD Dissertation, University of Connecticut, USA.
- Menotti-raymond, M. A., S. J. O'Brien. 1995. Evolutionary conservation of ten Microsatellite loci in four species of Felidae. *Journal of Heredity* 86: 319-322.
- Moore, A. J., J. M. Cheverud. 1992. Systematics of the *Saguinus oedipus* group of the bare-face tamarins: evidence from facial morphology. *American Journal of Physical Anthropology* 89: 73-84.
- Morin, P. A., J. Wallis., J. Moore., R. Chakraborty., D. Woodruff. 1993. Non-invasive sampling and DNA amplification for paternity exclusion, community structure, and phylogeography in wild chimpanzees. *Primates* 34: 347-356.
- Morin, P. A., J. Moore, R. Chakraborty, D. L. Jin, J. Goodall, D. S. Woodruff. 1994. Kin selection, social structure, gene flow, and the evolution of chimpanzees. *Science* 265: 1193-1201.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Noor, M. A. F. 1995. Incipient sexual isolation in *Drosophila pseudoobscura bogotana* Ayala & Dobzhansky (Diptera: Drosophilidae). *Pan-Pacific Entomologist* 71: 125-129.
- Noor, M. A. F., M. D. Schug, C. F. Aquadro. 2000. Microsatellite variation in populations of *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis*. *Genetical Research* 75: 25-35.
- Ohta, T., M. Kimura. 1973. A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. *Genetical research* 22: 201-204.
- Pope T. 1983. Genetic variation in the Red Howler Monkey *Alouatta seniculus* from Venezuela. MA Thesis, University of Florida, Gainesville, USA.
- Pope T. 1992. The influence of dispersal patterns and mating system on genetic differentiation within and between populations of the red howler monkey (*Alouatta seniculus*). *Evolution* 46: 1112-1128.
- Raymond M., F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248-249.
- Robertson, A., Hill, W. G. 1984. Deviations from Hardy-Weinberg proportions, sampling variances and use in estimation of inbreeding coefficients. *Genetics* 107: 703-718.
- Rogers, J., S. M. Witte, M. A. Slifer. 1995. Five new Microsatellite DNA polymorphisms in squirrel monkey (*Saimiri boliviensis*). *American Journal of Primatology* 36: 151.
- Ruiz-garcia, M. 1991. Más sobre la Genética de Poblaciones de *Felis catus* en la costa Mediterránea española: un análisis de la estructura genética de las poblaciones naturales de gatos. *Evol. Biol.*, 5: 227-283.
- Ruiz-garcia, M. 2005. The use of several microsatellite loci applied to 13 Neotropical Primates revealed a strong recent bottleneck event in the woolly monkey (*Lagothrix lagotricha*) in Colombia. *Primate Report* 71: 27-55.
- Ruiz-Garcia, M. and D. Alvarez. 2003. RFLP analysis of mtDNA from six Platyrrhine genera: Phylogenetic inferences. *Folia Primatologica* 74: 59-70.
- Ruiz-Garcia, M., A. Parra, N. Romero-Alean, P. Escobar-Armel, J. Shostell. 2006. Genetic Characterization and phylogenetic relationships between the *Ateles* species (Atelidae, Primates) by means of DNA microsatellite markers and craniometric data. *Primate Report* 73: 3-47.
- Ruiz-Garcia, M., P. Escobar-Armel, F. Nassar, D. Alvarez. 2007a Coalescence, bayesian and genetic structure of *Alouatta seniculus* populations in Colombia and Perú by means of DNA microsatellites. (sometido).

- Ruiz-Garcia, M., P. Escobar-Armel, D. Alvarez, M. Mudry, M. Asuncion, G. Gutierrez-Espeleta. 2007b. Genetic variability in four *Alouatta* species measured by means of nine DNA microsatellite markers: Genetic structure and recent bottlenecks. *Folia Primatologica* 78: 73-87.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch, T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. 2<sup>nd</sup> edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Sampaio M. I. C., Schneider M. P. C., Barroso C. M. L., Silva B. T. F., Schneider H., Encarnacion F., Montoya E. And Salzano F. M. 1991. Carbonic Anhydrase II in New World Monkeys. *International Journal of Primatology* 12: 389-402.
- Sampaio, I., M. P. C. Schneider, H. Schneider. 1996. The taxonomy of the *Alouatta seniculus* group: biochemical and chromosome data. *Primates* 37: 67-75.
- Schneider H., Sampaio M. I.c., Schneider M. P. C., Ayres J. M., Barroso C. M. L., Hamel A. R., Silva B. T. F. And Salzano F. M. 1991. Coat color and biochemical variation in Amazonian wild populations of *Alouatta belzebul*. *American Journal of Physical Anthropology* 85: 85-93.
- Schneider H; Schneider M. P. C; Sampaio I; Harada M. L; Stanhope M; Czelusniak J; Goodman M. 1993. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, Primates). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 3: 225-242.
- Schneider, H., I. Sampaio, M. L. Harada, C. M. I. Barroso. M. P. C. Schneider, J. Czelusniak. M. Goodman. 1996. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, Primates) based on two unlinked nuclear genes: IRBP intron 1 and  $\gamma$ -globin sequences. *American Journal of Physical Anthropology* 100: 153-179.
- Schneider M. P. C., Sampaio M. I. C., Schneider H., Encarnacion F., Montoya E., Pissinattii A., Coimbra-filho A. And Salzano F. M. 1994. Comparative study of Lactate Dehydrogenase in fifteen genera of new world monkeys. *Brazilian Journal of Genetics* 17: 321-329.
- Taylor, A. C., W. B. Sherwin., R. K. Wayne. 1994. Genetic variation of simple sequence loci in a bottlenecked species: the decline of the northern hairy-nosed wombat (*Lasiorhinus krefftii*). *Molecular Ecology* 3: 277-290.
- Walsh, P. S., D. A. Metzger, R. Higuchi. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques* 10: 506-513.
- Weir, B. S., C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- wright, s. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regards to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- Zhong, F., A. G. Brady, J. Shi. 1996. Strategy using pooled DNA to identify 56 short tandem repeat polymorphisms for the Bolivian squirrel monkey. *BioTechniques* 21: 580-586.