

Estructura genética de mariposas en un paisaje fragmentado: Una aproximación al manejo ambiental en Porce (Antioquia, Colombia)

Carlos Federico Álvarez Hincapié¹ / Luz Miryam Gomez² / Andrés López Rubio³ / Brian C. Bock⁴ / Sandra Uribe Soto⁵

Grupo de Sistemática Molecular de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín,

Butterfly genetic structure in a fragmented landscape: an environmental management approach in Porce (Antioquia, Colombia)

Resumen

Introducción: las crecientes actividades humanas sobre los ecosistemas y la necesidad para reducir los efectos nocivos de las transformaciones antrópicas hacen necesario que se incorpore en la gestión ambiental tecnologías de avanzada y desarrollos recientes en áreas como la Ecología y la Conservación molecular. Estos sugieren que la apropiación de la información genética y del componente evolutivo del medio biótico, son elementos necesarios en el manejo ambiental particularmente en ecosistemas fragmentados. **Materiales y métodos:** se seleccionaron cinco fragmentos de bosque del área de Porce (Antioquia, Colombia) para obtener información genética. Empleando secuencias de ADN mitocondrial, de mariposas con diferentes capacidades de dispersión (*Hypoleria vanilia* y *Euptychia hermes*), se determinó la existencia de posibles unidades de manejo, relacionando la información molecular con elementos del paisaje. **Resultados:** las especies con distintas capacidades de dispersión presentaron diferencias en su estructura genética, relacionadas con la composición y estructura del paisaje. **Discusión:** la incorporación de información genética constituye un elemento significativo en la toma de decisiones relacionadas con la intervención de los hábitats, favoreciendo un desarrollo sustentable en las estrategias de gestión. **Conclusión:** este trabajo constituye un aporte al conocimiento actual de la zona de estudio y a la toma de decisiones de manejo en la misma

Palabras claves: Fragmentación. Genética del paisaje. Mariposas. *Hypoleria vanilia*. *Euptychia hermes*. ADN mitocondrial. Gestión ambiental. Manejo. Bosque.

Abstract

Introduction: The increase of human activities on ecosystems and the need to reduce the adverse effects due to human transformations on them requires the incorporation in environmental management of state of the art technologies and recent developments in diverse areas of knowledge, including ecology and molecular conservation. These innovations suggest that appropriation of genetic information and of the evolutionary component of the biotic environment are necessary elements for environmental management, especially in fragmented ecosystems. **Materials and methods:** Five forest terrains in the Porce area (Antioquia, Colombia) were selected in order to obtain genetic information. Using mitochondrial DNA of two butterfly species with different dispersion capabilities (*Hypoleria vanilia* and *Euptychia hermes*), the existence of potential management units were determined by relating molecular information with landscape elements. **Results:** The species with different dispersion capabilities presented differences in their genetic structure, related to landscape composition and structure. The incorporation of genetic information constitutes a meaningful element in the process of decision making related to interventions in the habitats, benefiting a sustainable development in management strategies. **Conclusion:** This work contributes to current knowledge in the area and to future management decisions in same.

Key words: Fragmentation. Landscape genetics. Butterflies, *Hypoleria vanilia*. *Euptychia hermes*. mitochondrial DNA. Environmental management. Forests.

¹ Ingeniero agrónomo, especialista en Gestión Ambiental, M.Sc. Profesor de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Administrativas de la Corporación Universitaria Lasallista y de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín/ ²Bacterióloga y Laboratorista Clínica, estudiante Maestría en Entomología de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín / ³Estudiante de Biología Universidad de Antioquia/ ⁴Biólogo, Ph.D. Profesor asociado, Departamento de Ciencias Forestales, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín./ ⁵Ingeniera Agrónoma, M.Sc, PhD, Profesora asociada, Departamento Entomología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.

Correspondencia: Federico Álvarez Hincapié. e-mail: federicoalvarez@fragmento.org

Fecha de recibo: 22/05/2005; fecha de aprobación: 19/07/2005

Introducción

La fragmentación del paisaje es un proceso que cobra importancia a nivel mundial, ya que afecta la cantidad, la distribución, la ubicación espacial y la diversidad de las coberturas y usos del suelo. Conjuntamente con la pérdida de hábitat, puede influir negativamente en la variabilidad poblacional de diversos organismos¹. Áreas de desarrollo recientes como la Ecología y la Conservación molecular, sugieren que la apropiación de la información genética y del componente evolutivo del medio biótico, son elementos útiles en la gestión ambiental y en especial para ecosistemas fragmentados. La subdivisión de las poblaciones y la dispersión de los organismos estimada como flujo de genes, proporcionan información valiosa y complementaria a los inventarios de especies y análisis de paisaje. Aunque los desarrollos prácticos de las áreas moleculares son relativamente recientes,

cada vez es más frecuente su incorporación en estudios de conservación y su utilización para la toma de decisiones. En la presente investigación se exploró el estado de subdivisión de las poblaciones de mariposas en el área de estudio, mediante un análisis molecular. Esto se realizó analizando de forma conjunta elementos de genética de poblaciones complementarios a información de paisaje.

Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en el área de influencia del embalse Porce II (Amalfi, Antioquia, Colombia), donde el bosque húmedo tropical (Figura 1). Los fragmentos de bosque están inmersos en una matriz de pastos y de regeneraciones secundarias en distintos estados sucesionales, que se han desarrollado después de varias etapas de explotación.²

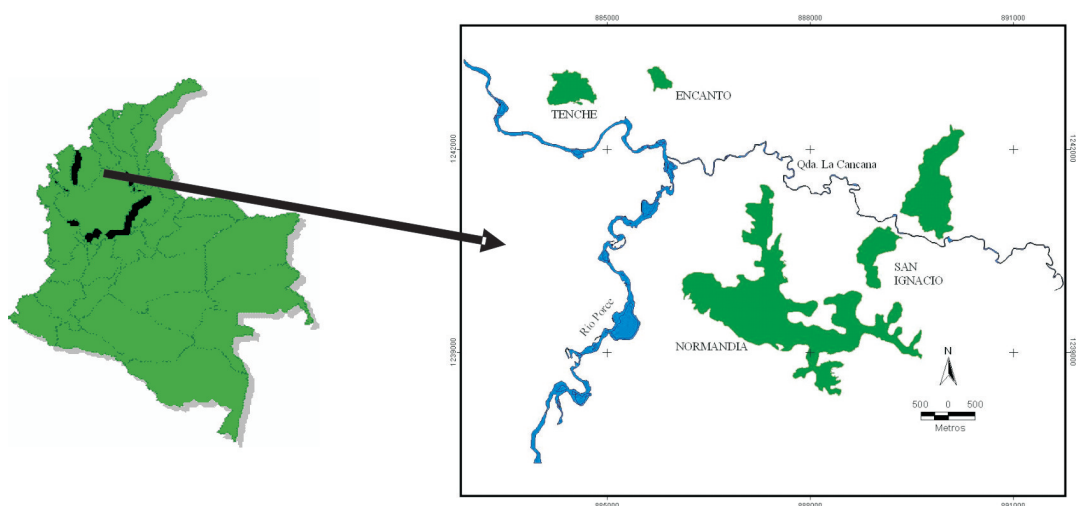


Figura 1. Bosques de Interés particular para el estudio

Se exploró el estado de subdivisión de poblaciones de 5 fragmentos de bosque primario, en dos especies de mariposas (34 ejemplares) con diferentes capacidades de dispersión: *Hypoleria vanilia*: alta (figura 2) y *Euptychia hermes*: baja (figura 3), mediante el análisis de secuencias de ADN mitocondrial con una longitud de 503 pares de bases (gen citocromo b).



Figura 2. *Hypoleria vanilia*. Fuente: Ortega y Duque, 1998³.



Figura 3. *Euptychia hermes*. Fuente: Eubanks, s.f.⁴

La selección del gen se basó en resultados de estudios previos que permiten, por sus altas tasas de mutación, identificarlo como de utilidad para estimar las subdivisiones recientes entre organismos estrechamente relacionados y el flujo de genes.^{5,6} Para la extracción de ADN se utilizó el método del Grind Buffer, protocolos de Porter y Collins⁷ modificados por Uribe⁸. Además, se empleó un KIT comercial de extracción de ADN para algunos ejemplares (DNA-Easy, Promega, Inc.). La amplificación del fragmento del gel de interés, se realizó mediante PCR (reacción en cadena de la Taq polimerasa), utilizando oligonucleótidos diseñados con base en el alineamiento de secuencias obtenidas del GenBank (NCBI) de invertebrados y en especial de Lepidoptera (CB3FC y NINFR). Los productos de PCR se secuenciaron en ambos sentidos de la doble cadena de ADN y las secuencias fueron editadas utilizando el programa Bioedit® comparándolas en ambos sentidos de la doble cadena para cada espécimen. Posteriormente se construyó la secuencia consenso a ser utilizada en el análisis, empleando el programa DNAsp versión 4. Se realizó la prueba de Mantel (paquete APE versión 1.4. del programa R versión 2.01) para determinar si había relación entre distancia geográfica y genética. Así mismo, se calcularon diversos índices para estimar el flujo de genes y la separación según los criterios de Hudson *et al*⁹. Se analizó de forma conjunta la conectividad genética entre las mariposas y la conectividad física entre los fragmentos de bosque, obtenida a partir del análisis del paisaje¹⁰ usando fotografías aéreas de la zona y mapas digitales de coberturas facilitados por Agudelo y Restrepo². Se interpretó el flujo de genes en relación con las características del paisaje que la literatura sugiere como importantes para las mariposas.

Resultados

Al realizar el alineamiento entre las secuencias provenientes de las mariposas del estudio con secuencias del banco de genes (GenBank), se comprobó que correspondieron a la región del extremo 3' del gen Citocromo B.

Para *H. vanilia*, especie con mayor capacidad de dispersión, la divergencia entre las secuencias fue de 2.33%, encontrándose 78 cambios nucleotídicos, de los cuales 45 (57,7%) correspondieron a transiciones, 13 (16,6%) a transversiones y 20 (25,6%) a inserciones. Para *E. hermes*, con menor capacidad de dispersión, la divergencia entre las secuencias fue de 7.81%, encontrándose 145 cambios, de los cuales 65 (44,8%) correspondieron a transiciones, 35 (24,1%) a transversiones y 45 (31,1%) a inserciones o deleciones.

En *H. vanilia* se encontraron 6 haplotipos y en *E. hermes* se encontraron 4 haplotipos. Aunque el número de haplotipos fue mayor en la especie con mayor dispersión, el número de cambios entre los haplotipos fue mayor en la otra especie. Al comparar los haplotipos de la especie con mayor dispersión, se encontraron 12 sustituciones de nucleótidos. En la otra especie, se encontraron 19 cambios entre los haplotipos. Al considerar las inserciones y/o deleciones estas fueron mayores en la especie con menor capacidad de dispersión. En la distribución de algunos de los haplotipos en el paisaje varios presentan localización geográfica, en especial los de la especie con menor dispersión. En ésta los haplotipos 1 y 4 fueron los más ampliamente distribuidos, el haplotipo 2 sólo se encontró en Normandía y Encanto y el haplotipo 3 sólo se encontró en San Ignacio. El haplotipo 3 fue el más distante y el menos frecuente. Los haplotipos más comparables fueron el 1 y el 4, ambos ubicados en San Ignacio 13 y Encanto.

Para la especie con mayor dispersión, el haplotipo 3 fue el que se encontró en todos los fragmentos de bosque, en un mayor número de individuos, siendo el más distante de los demás. Asumiendo la dispersión como el elemento responsable de la distribución de los haplotipos, este haplotipo podría ser una variación de uno ancestral que ha dispersado a la mayoría de los fragmentos. El haplotipo 6 sólo se encontró en el fragmento Tenche, el haplotipo 4 sólo en el Encanto y los haplotipos 2 y 5 sólo en Normandía. Los haplotipos 4, 5 y 6

presentaron una baja frecuencia, con los haplotipos 1 y 3 ampliamente distribuidos. Los más similares, fueron los haplotipos 1 y 5, ambos ubicados en Tenche, Encanto y Normandía.

Para estimar el flujo de genes, se consideraron los bosques Normandía y San Ignacio 13 como una sola unidad, ya que en 1961 constituían una unidad que se separó antes de 1979 y volvió a conectarse por rastrojos y bosques secundarios entre 1989 y 2001. Esta unidad representó para el análisis el área de mayor tamaño con 293,3 ha. La segunda unidad fue Tenche-Encanto, representando fragmentos pequeños y muy cercanos (25,88 ha y 7,53 ha, separados por 0,85 Km.). Esta unidad está separada de los demás frag-

mentos por 1,95 Km. de Encanto a Normandía y 3,79 Km. a San Ignacio45. Además de la corta distancia entre estos, los conecta un corredor relacionado con la quebrada La Frijolera y el drenaje adyacente, así como diferentes estados sucesionales avanzados. El bosque San Ignacio45 se consideró como otra unidad, ya que aunque se encuentra separado de Normandía y San Ignacio13 por una distancia relativamente corta (0,260 Km.), se encuentra en un área diferente, pues está separado por la quebrada La Cancana, una carretera y pastos. Su tamaño se encuentra en un rango medio en relación a las otras unidades. Las tablas 1 y 2 presentan los parámetros de flujo genético estimados para *H. vanilia* y para *E. hermes*:

Tabla 1. Variabilidad genética de *H. vanilia* y de *E. hermes*.

Población	<i>H. vanilia</i>		<i>E. hermes</i>	
	Pi	K	Pi	K
Normandía-San Ignacio 13	0.0504	2.5	0.0271	13.53
Tenche-Encanto	0.0053	2,64	0.0267	13.33
San Ignacio 45	0	0	0	0

Tabla 2. Diferenciación genética entre poblaciones de *H. vanilia* y de *E. hermes*

Comparación	<i>H. vanilia</i>		<i>E. hermes</i>	
	Theta	Fst	Theta	Fst
Normandía-San Ignacio13 / Tenche-Encanto	0.0030	0.028	0.0191	0
Tenche-Encanto / San Ignacio45	0.0060	0.119	0.0151	0.444
Normandía-San Ignacio13 / San Ignacio45	0.0003	0.375	0.0018	0.248

Discusión

Los valores de Pi sugieren moderada variabilidad entre los individuos de Normandía-San Ignacio para la especie con mayor dispersión. El valor de cero (en ambas especies) para San Ignacio 45 se debe a que los individuos muestreados tenían el mismo haplotipo. El índice Theta (relacionado a la existencia de migrantes entre las unidades) señala la presencia de flujo genético. Los valores de Fst mayores a 0.135 son indicativos de restricciones de flujo de genes y valores mayores como el de 0.444 para *E. hermes* entre Tenche-Encanto y San Ignacio45 indican casi ningún flujo, de acuerdo a otros estudios realizados con insectos, incluyendo mariposas, a escalas geográficas amplias com-

paradas con las del presente estudio¹¹. En general, se documentó mayor restricción al flujo genético entre unidades en la especie con menor dispersión, con excepción de Normandía-San Ignacio 13 / Tenche-Encanto.

La contribución de la distancia a la diferenciación fue evaluada usando el modelo de aislamiento por distancia.¹² El test de Mantel no encontró influencia de la distancia en la diferenciación entre unidades para las especies.

El paisaje actual de la zona está compuesto por diversos estados sucesionales de regeneración, lo que podría favorecer el movimiento de mariposas de bosque. Los cambios globales de las co-

berturas de bosque en la zona muestran que en el período de estudio éstos han conservado su forma y distribución espacial. Sin embargo, algunos fragmentos que pudieron tener un papel como conectores en la vertiente norte de la quebrada La Cancana han desaparecido entre 1961 y el 2001.¹⁰ En este período, un cambio significativo fue la separación del bosque San Ignacio del bosque Normandía, lo que implicó una pérdida considerable de cobertura boscosa. Sin embargo, en la actualidad estas unidades boscosas se encuentran conectadas por bosques secundarios, lo que puede favorecer la dispersión entre ellos. Se redujo la dominancia de pasturas en 1961, por el avance del proceso sucesional en el área para el 2001.² Los efectos de la fragmentación en el tamaño poblacional de especies de bosque pueden ser limitados cuando no hay una remoción selectiva de hábitat.¹³ En el área de estudio este caso, la relativa constancia en el número y las dimensiones de los parches de bosque, sugieren que para las poblaciones residentes en estos no ha existido una reducción poblacional debida a las transformaciones del paisaje durante el lapso de estudio. Esta asunción debe confirmarse a partir de estudios demográficos, ya que ha sido reportado que fluctuaciones en el tamaño poblacional son comunes en poblaciones naturales de algunas especies.¹⁴ Existe una conexión física entre los parches de bosque primario Tenche y Encanto. Para el bosque Normandía hay una conexión con el parche San Ignacio, ya que gran parte de la vertiente sur de la quebrada La Cancana esta conformada por bosque secundario, estableciendo un área continua y extensa de cobertura boscosa adyacente al bosque primario.¹⁰

Conclusiones y Recomendaciones

Empleando las mariposas como sistema modelo, a manera de estudio de caso exploratorio para la inclusión la información genética en la gestión ambiental, este trabajo se desarrolló bajo la hipótesis de que los elementos de paisaje, en especial el tamaño, la distribución de los parches y la distancia geográfica, afectan de manera diferencial las especies con diferentes capacidades de dispersión, siendo posible identificar estos elementos a partir del análisis del ADN mitocondrial, definiendo posibles unidades de manejo. El protocolo analítico desarrollado podría incorporarse en trabajos de investigación y actividades de gestión

futuras, incluyendo: la selección del marcador molecular y del organismo modelo, el estudio del paisaje actual y de la dinámica espacial de la zona por medio de análisis cualitativo y cuantitativo, así como la integración de la información genética de las poblaciones con las características del paisaje.

Las redes de drenaje, en particular del bosque Normandía pueden influenciar la presencia de los haplotipos encontrados. Esto unido a su tamaño, diversidad y estabilidad temporal, sugieren que es una unidad de manejo representativa.

Los bosques Tenche y Encanto, aunque son de un tamaño reducido, aparecen como una unidad de manejo de importancia para la preservación de la diversidad genética. Es importante recalcar que la dinámica del paisaje, así como la variabilidad local, las condiciones ambientales y la calidad del hábitat, imprime un alto grado de complejidad al estudio de la fragmentación y de la conectividad funcional entre las unidades.

La información obtenida puede servir de línea base para evaluaciones futuras para el seguimiento en el tiempo, tanto de la evolución del paisaje como de la genética de las poblaciones que soporta, en aras de alcanzar un mayor conocimiento de las dinámicas espaciales y su influencia en los organismos. Esto es significativo en una zona donde se desarrollan obras de desarrollo relacionadas con la generación de hidroenergía y que además es de importancia estratégica para la conservación de la biodiversidad, al tratarse de relictos de bosque tropical en un valle interandino (reconocidos como de alta prioridad a nivel nacional e internacional).

Aparecen diversas líneas de trabajo para el desarrollo de investigaciones futuras. De importancia sería explorar los efectos del aumento en el tamaño muestral y la implementación de otras herramientas genéticas como los microsatélites. Se debería trabajar en la modelación del paisaje para determinar potenciales puntos críticos para la conectividad de unidades poblacionales, y la aplicación de técnicas moleculares.

Estudios directos sobre la dispersión de los organismos, permitiría fortalecer el nexo entre la información biológica, la genética y el paisaje.

Debe explorarse a mayor profundidad la permeabilidad de las coberturas del paisaje para el movi-

miento de los organismos, así como la aplicación de técnicas de análisis espacial para involucrar variables diferentes a la biótica que puedan influir en la conectividad poblacional.

Se considera que la incorporación de la información genética en la toma de decisiones relacionadas con la intervención de los hábitats naturales, es un elemento indispensable para lograr un desarrollo sustentable en las estrategias de gestión.

Agradecimientos

Esta investigación se llevo a cabo gracias al apoyo de la Universidad Nacional de Colombia (DIME, DINAIN, MEFLG, Grupo de Sistemática Molecular), Colciencias, Ingeominas y Catastro Departamental de Antioquia. Agradecemos los aportes de Alba Lucia Marín, Camilo Quintero, Patricia Duque, Edgar Alberto Agudelo y Juan Camilo Restrepo.

Referencias

1. SAWCHIK, J.; DUFRENE, M.; LEBRUN, P.; SCHANTINCKZELLE, N. y BAGUETTE, M. Metapopulation dynamics of the bog fritillary butterfly: modeling the effect of habitat fragmentation. En: Acta oecologica. No. 23 (2002); p.287-296.
2. AGUDELO R., E.A. y RESTREPO M., J.C. Análisis multitemporal de coberturas vegetales en un bosque húmedo tropical (Rio Porce, Colombia). Medellín, 2004, 41 p. Trabajo de grado (Ingeniería Forestal). Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias.
3. ORTEGA, O.E. y DUQUE, P. Las mariposas: historia natural y conservación. Medellín: Empresas Públicas de Medellín; 1998. 31 p.
4. EUBANKS, T. Nature photography. Fermata photo gallery. [Citación: 15/03/2003] URL disponible en: <http://www.fermatainc.com/coppermine/displayimage.php?album=random&cat=&pos=200>
5. SIMMONS, R. B. y WELLER, S. J. Utility and evolution of cytochrome *b* in insects. En: Molecular phylogenetics and evolution. Vol. 20, No. 2 (2001); p.193-210.
6. BEJARANO M., E.E. Variabilidad genética y especiación en *Lutzomyia (verrucarum) evansi* (Nuñez Tovar, 1924), vector de leishmaniasis visceral americana. Medellín, 2001, Trabajo de grado (M.Sc.) Universidad de Antioquia / PECET.
7. PORTER CH. y COLLINS F.H. Species-diagnostic differences in a ribosomal DNA internal transcribed spacer from the sibling species *Anopheles freeborni* and *Anopheles hermsi* (Diptera: Culicidae). En: American journal of tropical medicine and hygiene. No. 45 (1991); p. 271–279.
8. URIBE S., S.I. Population structure and speciation in the morphospecies *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) as derived from mitochondrial ND4 gene. Medellín, 1999, 73 p. Tesis (Ph.D. Biología molecular). Universidad de Antioquia-Center for Diseases Control. Medellín.
9. HUDSON, R.R.; BOSS, D.D. y KAPLAN, N.L. A statistical test for detecting geographic subdivision. En: Molecular biology and evolution. Vol. 9, No.1 (1992); p. 138-151.
10. ÁLVAREZ H., C.F. Elementos de estructura genética de poblaciones y de paisaje: una aproximación a la conservación y manejo en el área de Porce. Medellín, 2005, 107 p.. Trabajo de grado (M.Sc en Medio Ambiente y Desarrollo). Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de Minas.
11. ROGERS, D.L.; MILLAR, C.I. y WESTFALL, R.D. Genetic diversity within species. En: ERMAN, D.C. Sierra Nevada ecosystem project: final report to congress. Vol. II, Assessments and scientific basis for management options. Davis: University of California, Centers for Water and Wild land Resources. 1996. p. 759-838.
12. WRIGHT, S. Isolation by distance under diverse systems of mating. En: Genetics. No. 31 (1946); p. 39-59.
13. BENDER, D.J.; CONTRERAS, T.A. y FAHRIG, L. Habitat loss and population decline: a meta-analysis of the match size effect. En: Ecology. Vol. 79, No. 2 (1998); p. 517-533.
14. FRANKHAM, R. Conservation genetics. En: Annual Review of Genetics. Vol. 29 (1995). p. 305-323.