

ANÁLISIS DE SEIS POBLACIONES LATINOAMERICANAS DE GATOS MEDIANTE GENES DEL PELAJE Y MARCADORES MICROSATÉLITES

Manuel Ruiz-García y Diana Alvarez

Unidad de Genética (Grupo de Genética de Poblaciones- Biología Evolutiva).
Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.
Cra 7a No 43-82. Bogota DC., COLOMBIA
E-mail: mruiz@javeriana.edu.co

RESUMEN

Seis poblaciones latinoamericanas de gatos (La Habana, San José, Bogotá, Asunción, Buenos Aires y Santiago) han sido estudiadas desde una perspectiva genético poblacional con marcadores que codifican características morfológicas del pelaje y marcadores moleculares nucleares microsatélites (FCA43, FCA45, FCA96, FCA126). A partir de las frecuencias alélicas de ambos tipos de marcadores genéticos se investigó: (1) si el tipo y la intensidad de las diferencias genéticas encontradas para diversos loci morfológicos entre las poblaciones de gatos en Gran Bretaña y en sus ex-colonias transmarítimas (EU, Canadá, Australia) se dio también entre las poblaciones de gatos actuales en España y en Latinoamérica y (2) si las relaciones genéticas de esos caracteres morfológicos entre algunas de esas poblaciones latinoamericanas de gatos fue paralela a las relaciones encontradas con marcadores moleculares microsatélites. Los resultados obtenidos fueron: (A) Todas las poblaciones analizadas estuvieron en equilibrio Hardy-Weinberg para los loci Q, S y para los cuatro loci microsatélites estudiados, con la excepción de la población de La Habana para el locus S. (B) Los fenogramas obtenidos mostraron que las relaciones de las seis poblaciones latinoamericanas de gatos respecto a las poblaciones españolas y europeas fueron muy heterogéneas. Por ejemplo, la población de Asunción (Paraguay) fue genéticamente indistinguible de algunas poblaciones de gatos analizadas en Cataluña, tanto con los genes morfológicos como con los microsatélites, mientras que Santiago presentó más semejanzas con las poblaciones de gatos de presunto origen británico en la costa Este de los Estados Unidos cuando se utilizaron los genes del pelaje. La fuerte heterogeneidad genética entre algunas de las poblaciones latinoamericanas estudiadas hace pensar en que diversas migraciones geográficas, o temporales, se dieron desde España, o que diversos grados de deriva genética se dieron en la fundación de las diferentes poblaciones latinoamericanas estudiadas. Finalmente, los resultados moleculares son similares a los obtenidos con los genes de codificación morfológica por lo que la evolución global de éstos parece más modulada por fuerzas neutrales que selectivas.

Palabras Claves: colonización; gato; genes morfológicos; genética de poblaciones; Imperios europeos; Latinoamérica; microsatélites-ADN.

ABSTRACT

Six Latin American cat populations (La Havana, San Jose, Bogotá, Asunción, Buenos Aires and Santiago) have been studied from a population genetics standpoint by using different morphological coat and molecular microsatellite markers (FCA43, FCA45, FCA96 and FCA126). The main aims of the current work are as follows: (1) To determine whether the type and intensity of the genetic differences found for diverse morphological loci among the current British cat populations and those from the British oversea colonies (USA, Canada and Australia) agree with the differences among the current Spanish cat populations and those from Latin America and (2) to determine if the genetic relationships among some of these Latin American cat populations are in agreement by using independently morphological and molecular microsatellite markers. The different results obtained were as follows: (A) All populations analyzed were in Hardy-Weinberg equilibrium at the Q, S and at the four microsatellite

loci studied with the exception of La Havana at the S locus. (B) The trees obtained showed that the relationships of the six cat populations studied regard to the Spanish populations, in particular, and with the European populations, in general, were extremely heterogeneous. Therefore, for instance, Asuncion was genetically identical to some Catalonian populations meanwhile Santiago (Chile) revealed more resemblance with the cat populations of presumed British origin in the Eastern Coast of the United States by means of the coat color genes. The striking genetic heterogeneity among some of these Latin American cat populations could be explained by the existence of different geographic, or temporal, migrations from Spain and/or that diverse gene drift degrees were present in the foundation of the diverse populations studied. Finally, the molecular results were similar to those obtained with the gross morphological genes. Therefore, the overall evolution of these morphological markers is controlled more probably by neutral stochastic forces than by selective ones.

Key Words: Cats; Colonization; DNA microsatellites; European empires; Latin American; morphologic genes; population genetics.

INTRODUCCIÓN

Blumenberg (1977a), Blumenberg & Lloyd (1980), Lloyd (1987), Ruiz-García (1990a, 2000) y Ruiz-García & Alvarez (1999) definieron el origen y la evolución de las poblaciones coloniales de gatos domésticos (*Felis sylvestris f. catus*) fundadas durante épocas históricas en aquellos lugares de la Tierra, donde esta especie no existía, como la "Hipótesis de la migración histórica". Esta hipótesis ha sido especialmente útil en la interpretación de los eventos evolutivos que han acontecido entre las poblaciones coloniales de gatos de origen británico y las poblaciones actuales de gatos en Gran Bretaña respecto a un conjunto de genes que codifican el pelaje. Blumenberg (1977a) y Ruiz-García (1990a) mostraron que, cuanto mayor era el periodo de tiempo transcurrido desde la formación de los asentamientos coloniales británicos, mayor eran las distancias genéticas entre las poblaciones de gatos coloniales y las actuales poblaciones británicas. Así, las poblaciones fundadas en Norteamérica (EU), durante el siglo XVII, mostraron las distancias genéticas mayores respecto a las actuales poblaciones de gatos en Reino Unido, mientras que las poblaciones australianas, fundadas a finales del siglo XIX, muestran distancias mucho menores respecto a las segundas. Algunos de los resultados obtenidos por Ruiz-García (1990a) ponen claramente de manifiesto ese hecho. Se mostró que el valor medio de la identidad genética de Nei (1972) de dos poblaciones británicas (Londres y Bristol) respecto a diversos grupos de poblaciones coloniales británicas en Estados Unidos de Norteamérica (representación poblacional del siglo XVII), Canadá (siglo XVIII) y Australia (siglo XIX-XX), se incrementó constantemente con la cercanía del origen temporal entre las poblaciones coloniales y las poblaciones británicas actuales con una reducción progresiva de la varianza. Eso indica que existen diferencias alélicas considerables entre las poblaciones británicas actuales y las poblaciones de origen anglo en Estados Unidos. Las principales diferencias están originadas por las frecuencias del alelo t^b ("blotched tabby"), que en las islas Británicas (0.70 - 0.80) son mucho más elevadas que las que se encuentran en poblaciones de Estados Unidos (0.40 - 0.50), y, también, por las frecuencias de a ("non-agouti"), algo más elevadas en Gran Bretaña (0.75 - 0.83) que en Estados Unidos (0.65 - 0.75). A su vez, las poblaciones de E.U presentan frecuencias de d ("dilution") más elevadas (0.40 - 0.50)

que en poblaciones británicas (0.20 - 0.30). Todo ello permitió proponer a ciertos autores (Blumenberg 1977a, Blumenberg & Lloyd 1980, Robinson 1980, 1987, Todd 1977a, 1977b) la posible existencia de eventos selectivos asociados a una progresiva melanización del pelaje en las poblaciones británicas de gatos, debido a la fuerte presión urbana que caracterizó a esas poblaciones insulares durante los siglos XVII, XVIII y XIX, ya que fueron las primeras en sufrir las consecuencias de la revolución industrial.

Esta hipótesis selectiva se fundamenta en el hecho de que las alternativas alélicas que posibilitan coloraciones más melánicas se verían favorecidas en el medio urbano. Este tipo de hábitat posibilitaría un incremento en el número y densidad de gatos en sus respectivas poblaciones. Esto está refrendado por algunos resultados demográficos obtenidos en poblaciones actuales. En el medio rural y en pequeñas islas desiertas se han encontrado densidades oscilando entre 2 y 50 gatos/km², mientras que en contextos urbanos, estas densidades han aumentado muy considerablemente, Ainosima (Japón) con 2350 gatos/km², la zona antigua de Roma con 1000-2000 gatos/km², o el puerto de Portsmouth (Inglaterra) con 200-300 gatos/km² (Dards 1978, Izawa 1984, Izawa *et al.* 1982, Natoli 1985). Este aumento de la concentración de gatos en el medio urbano pudo seleccionar a individuos que tienden a "sociabilizar" con otros congéneres para poder co-existir y tolerar altas densidades poblacionales y adaptarse a una mayor ingerencia humana en sus vidas. Algunos ejemplos de la relación entre genes de la coloración y comportamientos han sido puestos en evidencia en ratas (Keeler 1942, 1947), en visones (Keeler & Moore 1961) y, especialmente, en zorros (Belyaev & Trut 1975, Borodin 1981, Keeler 1975, Keeler *et al.* 1968, 1970). En esta última especie se ha encontrado una correlación entre tres mutantes del color del pelaje (a, "non-agouti"; d, "dilution" y c, "chocolate") y ciertos rasgos del comportamiento, especialmente, relacionados con la agresividad y ciertas funciones adrenales, pituitarias y tiroideas. Quizá la relación más interesante es la que implica la función adrenal. Los mutantes recesivos aa (negros) mostraron un cociente, peso glándula adrenal/peso del cuerpo, menor y, además, se estableció la existencia de alteraciones en precursores comunes en la síntesis de las melaninas y de las adrenalinas. Los individuos negros resultaron menos temerosos y más resistentes al estrés que los de coloración silvestre. Por todo ello, es posible que los animales con coloraciones oscuras produzcan menos adrenalina y otros neurotransmisores y que, por lo tanto, sean menos agresivos y temerosos, pudiendo acomodarse más fácilmente a una mayor presión demográfica. El cambio registrado en las frecuencias alélicas, durante los últimos siglos, en las poblaciones británicas de gatos podría responder a este criterio selectivo. Pero, Gran Bretaña no fue la única potencia europea que poseyó colonias transmarítimas. España y Portugal, también, fueron potencias coloniales. Si este fenómeno selectivo fuera universal, cabría esperar que las mismas tendencias de cambios genéticos se dieran entre las actuales poblaciones ibéricas de gatos y las poblaciones latinoamericanas. Todd & Lloyd (1984) analizaron el caso del imperio portugués, pero no pudieron dar una respuesta concluyente.

El primer objetivo de este estudio es comparar seis poblaciones latinoamericanas de gatos (La Habana, Santafé de Bogotá, San José, Asunción, Buenos Aires y Santiago)

con una serie de poblaciones muestreadas en España y otros países europeos para determinar si el "experimento" genético intercontinental español responde positiva, o negativamente, a las mismas características y criterios de cambios en las frecuencias alélicas del "experimento" británico.

El segundo objetivo fue determinar, en la medida de lo posible, qué poblaciones españolas pudieron originar a las poblaciones latinoamericanas estudiadas.

El tercer objetivo fue comparar las relaciones genéticas entre ciertas poblaciones de gatos americanas y europeas utilizando los marcadores morfológicos comentados, con las relaciones obtenidas entre una parte de esas mismas poblaciones utilizando marcadores moleculares nucleares microsatélites hipervariables (STRPs, Short Tandem Repeat Polymorphisms). Resultados similares entre las relaciones poblacionales obtenidas con los marcadores morfológicos y moleculares indicarían que los primeros probablemente han seguido una dinámica global relativamente neutral ya que se cree que los microsatélites, al no codificar aparentemente ninguna proteína, tienen una dinámica esencialmente neutra (Schlotterer 2000). De este modo, se podrían aportar resultados importantes en favor de una de dos posibles hipótesis: 1) En la formación de las poblaciones latinoamericanas de gatos predominaron los fenómenos selectivos afectando a los genes de la coloración, como parece haber ocurrido en Gran Bretaña, o 2) Fenómenos estocásticos, como la deriva genética y efectos fundadores, o eventos migratorios dependientes de parámetros espaciales o temporales fueron los principales responsables de las frecuencias alélicas de los genes morfológicos estudiados en las poblaciones latinoamericanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Análisis de genes morfológicos

Entre Mayo de 1994 y Octubre de 1999, se muestrearon poblaciones de gatos en las ciudades de La Habana, Cuba (animales muestreados, $n = 334$), Santafé de Bogotá, Colombia ($n = 1105$), San José, Costa Rica ($n = 138$), Santiago, Chile ($n = 126$), Buenos Aires, Argentina ($n = 675$) y Asunción, Paraguay ($n = 44$) para determinar sus respectivas características genéticas. Se estudiaron una serie de genes mendelianos que codifican la coloración, diseño y longitud del pelaje. La naturaleza mendeliana y la penetrancia total de estos marcadores ha sido mostrada por Robinson (1977) y Wright & Walters (1982). Igualmente, a una fracción de los animales muestreados en cada ciudad se les extrajeron mechones de pelos con bulbo y sangre para llevar a cabo un estudio molecular paralelo. Se tomaron estrictas medidas de seguridad para evitar incluir la observación de algún gato analizado previamente. En el caso que se tuviera la más mínima duda de que un animal fue previamente muestreado, éste fue excluido del estudio.

Los fenotipos de los gatos fueron obtenidos directamente de la observación de los animales y la nomenclatura genética utilizada está en plena concordancia con la propuesta por el "Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Cats (1968)". La herencia y la ausencia de ligamiento de esos factores han sido previamente

discutidos en detalle por Robinson (1977), Wright & Walters (1982) y Ruiz-García (1990b, 1994), siendo los caracteres genéticos estudiados: O (orange. Carácter ligado al sexo) y los loci autosómicos, A (A, a; agouti vs. non-agouti), T (T^a, t⁺, t^b; Abyssinian tabby vs. mackerel o atigrado vs. blotched tabby), D (D, d; full color vs. dilution), L (L, l; pelo corto vs. pelo largo), S (s⁺, S; no manchado de blanco vs. manchado de blanco), W (w⁺, W; color normal vs. Dominant White), C (C, c^s; color normal vs. siamés), I (I, i; Inhibitor o plateado vs. no plateado) y M (M, m; Manx o cola corta vs. cola normal).

La frecuencia del alelo "Orange" fue calculada con el método de máxima verosimilitud de Robinson & Silson (1969) y Robinson (1972), suponiendo una relación de sexos de 1:1. De esta manera $p(O) = (2a + b)/(2N)$, donde a = número de gatos Orange (O/O and O/-), b = número de hembras "tortoiseshell" o calico (O/o) y N = tamaño muestral para ese locus. Las frecuencias alélicas autosómicas recesivas (q) fueron estimadas por la raíz cuadrada de las frecuencias fenotípicas y las frecuencias alélicas dominantes (p) fueron calculadas como 1-q, a partir de la ley del equilibrio Hardy-Weinberg.

Para determinar si las poblaciones estaban en equilibrio Hardy-Weinberg para los loci O y S, se utilizó el estadístico f de Robertson & Hill (1984), con su probabilidad estadística asociada, ya que estos son los únicos dos loci donde se observan los heterocigotos debido a que en los restantes genes morfológicos se dan fenómenos de dominancia-recesividad, lo cual impide el cálculo de los estadísticos F_{IT} y F_{IS} de Wright (1951).

Se utilizaron diversas agrupaciones compuestas por poblaciones americanas y europeas de gatos para establecer las relaciones genéticas entre las mismas respecto a las nuevas poblaciones aquí reportadas. Para ello, se utilizaron dos distancias genéticas con propiedades matemáticas diferentes: la distancia de Nei (1972) y la de Prevosti (1974). El primer análisis que se realizó con la distancia de Nei fue la obtención de los valores promedio entre las poblaciones reportadas con diferentes grupos de poblaciones americanas y europeas. Los perfiles genéticos de esas poblaciones americanas y europeas se obtuvieron a partir de Lloyd & Todd (1989), analizándose exactamente las frecuencias alélicas de los mismos genes morfológicos estudiados aquí. Se emplearon los tests de Student-Newman-Keuls, la F múltiple de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch y el de Scheffé para determinar las posibles diferencias entre pares de agrupaciones geográficas respecto a cada una de las poblaciones latinoamericanas de gatos estudiadas (Ryan 1960, Einot & Gabriel 1975, Welsch 1977). Para obtener relaciones jerárquicas entre las poblaciones estudiadas se utilizó el procedimiento UPGMA (Sneath & Sokal 1973). El coeficiente de correlación cofenético se estimó mediante el test de Mantel normalizado (Mantel 1967), utilizando la técnica de Smouse *et al.* (1986). Su significación estadística se evaluó mediante un test t normalizado de Mantel y mediante una simulación de Monte Carlo con 1000 permutaciones. Para determinar el grado de significación de cada ensamble obtenido se utilizó el procedimiento "bootstrap" (Felsenstein, 1985).

Para determinar la posible existencia de agrupaciones no jerárquicas asociadas a diversos movimientos migratorios se empleó la técnica K-means (Spath 1980). Este método no jerárquico permite detectar un número pre-determinado de acervos

genéticos diferentes, generando una partición de las poblaciones en k grupos mutuamente excluyentes requiriendo, *a priori*, la especificación del número de agrupaciones deseadas. En el presente estudio, para la agrupación de poblaciones europeas se postuló un número $k = 4$, donde estos cuatro grupos considerados, *a priori*, estarían constituidos por las poblaciones británicas y francesas (las típicamente europeo occidentales), las poblaciones portuguesas, las poblaciones españolas y el grupo constituido por las poblaciones latinoamericanas, suponiendo que, aunque éstas pudieran ser de origen hispano, sin embargo, pudieran haberse diferenciado suficientemente del grupo español ya sea por selección o por fenómenos estocásticos. Para la agrupación constituida por poblaciones norteamericanas, latinoamericanas y europeas, se definió, también, $k = 4$. En este caso, ese número corresponde, *a priori*, al grupo de poblaciones británicas y francesas (altamente diferenciadas en los últimos siglos por el incremento en las frecuencias de los genes melanizantes debido a selección), al grupo de las poblaciones de EU y canadienses de origen anglosajón, al grupo de las poblaciones ibéricas y al grupo de sus poblaciones descendientes en las Américas, tanto de origen hispano como portugués.

Se analizó la existencia de posible aislamiento por distancia entre las poblaciones latinoamericanas de gatos mediante el procedimiento de Slatkin (1993).

Análisis de loci microsatélites

Los análisis aquí presentados son preliminares, ya que el número de microsatélites (STRPs) analizados es muy pequeño. Sin embargo, este es, hasta donde conocen los autores, el primer trabajo donde se comparan resultados de genes codificantes de grandes trazos morfológicos con los obtenidos con microsatélites para poblaciones de gatos. Esos primeros resultados muestran una concordancia muy interesante entre ambos tipos de marcadores genéticos. Los marcadores moleculares empleados fueron cuatro, FCA43, FCA45, FCA96 y FCA126. Los motivos de repetición de estos marcadores fueron $(CA)_{17}$, $(CA)_{15}$, $(CA)_{17}$, y $(CA)_{24}$ respectivamente. Cada uno de ellos se localiza en un cromosoma diferente del genoma felino. Los mismos fueron diseñados por Menotti-Raymond & O'Brien (1995). Se analizaron esos loci microsatélites para los gatos de Bogotá, Colombia ($n = 21$) y Asunción, Paraguay ($n = 37$). Adicionalmente, para poder realizar comparaciones también se analizaron muestras de gatos procedentes de Sao Paulo, Brasil ($n = 36$), Barcelona, España ($n = 44$), Roma ($n = 67$), Venecia ($n = 174$), Florencia ($n = 23$), Nápoles ($n = 53$) y Cinque Terra, Italia ($n = 28$). Para muchas de esas poblaciones existen datos para los genes morfológicos, por lo que se pudieron llevar a cabo comparaciones entre los resultados con los genes del pelaje y los obtenidos con marcadores moleculares. Los microsatélites están compuestos por elementos nucleares cortos repetitivos que, generalmente, están integrados por tándems de repetición de 1 a 6 pares de bases. Son marcadores ampliamente dispersos por el genoma de los organismos eucariotas, presentando un muy elevado polimorfismo y una muy notable variabilidad genética, lo que ha fomentado su uso como marcadores de tipo forense, genético poblacional y para la realización de mapas de ligamiento.

Para llevar a cabo el presente análisis, se recolectaron de 0.5 a 2 ml de sangre en tubos con EDTA disódico, cuando fue el caso y, principalmente, se obtuvieron

mechones de pelos con raíces de los animales de fenotipo conocido en las ciudades analizadas. De este modo, los animales estudiados para los microsatélites son un subconjunto de los animales analizados para los genes del pelaje. Con las muestras de sangre se procedió a extraer el ADN con tres métodos diferentes. Estos fueron los métodos del fenol-cloroformo (Sambrock *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 54 y 650 ng/ μ l. Una vez que el ADN fue extraído, se procedió a la amplificación del mismo utilizando la técnica del PCR (Polymerase Chain reaction). Estos PCR tuvieron un volumen de 25 μ l, cuando el ADN fue extraído de sangre total, con 2.5 μ l de $MgCl_2$ 3 mM, 2.5 μ l de Buffer 10x, 1 μ l de dNTPs 0.04 mM, 10 pmol de cada cebador (primer), 14.5 μ l de H_2O , 2 μ l de ADN (50-100 ng por μ l) y 0.4 unidades de Taqpolimerasa. Cuando la extracción se llevó a cabo con Chelex (pelos), el volumen de la reacción de PCR fue de 50 μ l, con una cantidad doble de los reactivos citados y 20 μ l de ADN. Las temperaturas utilizadas en la reacción de PCR fueron las siguientes: 95 °C durante los primeros 5 minutos; a continuación 35 ciclos incluyendo 1 minuto a 95 °C, 2 minutos a 58 °C y 2 minutos a 72 °C. Una vez finalizados esos 35 ciclos, 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 etídio. Una vez se comprobó que las muestras habían amplificado, éstas se corrieron en geles desnaturizantes de poliacrilamida al 6% en una cámara vertical Hoefer SQ3 sequencer, que permite resolver diferencias de hasta una 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 $AgNO_3$. Los marcadores de peso molecular utilizados fueron ϕ 174 cortado con Hind III y Hinf I.

A partir de los genotipos de los microsatélites se procedió a obtener las matrices de distancias genéticas de Nei (1972) y $\delta\mu^2$ (Goldstein *et al.* 1995). Con ellas se procedió a obtener fenogramas con el método UPGMA, los cuales fueron contrastados con los resultados obtenidos con los genes morfológicos para esas mismas poblaciones.

RESULTADOS

Frecuencias alélicas para los genes morfológicos, para los loci microsatélites y equilibrio Hardy-Weinberg (HW)

Las frecuencias alélicas de los genes morfológicos y el tamaño de los alelos microsatélites de las poblaciones analizadas se muestran en el Cuadro 1. La aplicación de la *f* de Robertson & Hill (1984) indica la existencia de un único caso de sesgamiento del equilibrio H-W para los loci Q y S, (los únicos dos loci morfológicos co-dominantes donde se puede estudiar el equilibrio H-W); Solo la muestra de La Habana mostró un exceso de homocigotos (SS) para el gen S (*f* = 0.1667; *p* = 0.0034). Los

cuatro marcadores microsatélites estudiados estuvieron en equilibrio H-W para todas las poblaciones de gatos estudiadas. Así pues, podemos considerar que, de forma general, ambos loci morfológicos y los microsatélites están en equilibrio H-W en las poblaciones de gatos analizadas.

Cuadro1

A. Perfiles genéticos de seis poblaciones latinoamericanas de gatos utilizando los alelos O (Orange), a (non-agouti), t^b (blotched tabby), T^a (Abyssinian tabby), d (dilution), l (long hair), S (White spotting), W (Dominant White), I (Inhibitor), C^s (Siamese). N = tamaño muestral. **B.** Poblaciones de gatos estudiadas con cuatro marcadores microsatélites (Fca43, Fca45, Fca96, Fca126). Se muestra el número de alelos encontrado en cada marcador y población. Los alelos están medidos en pares de bases.

A.

Población	N	O	a	t ^b	T ^a	d	l	S	W	I	C ^s
La Habana	334	0.304	0.717	0.244	0.014	0.140	0.618	0.394	0.022	0.0016	0.194
San José	138	0.286	0.811	0.328	0.000	0.395	0.389	0.429	0.023	0.0160	0.174
Bogotá	1105	0.186	0.858	0.182	0.000	0.946	0.338	0.209	0.009	0.0048	0.235
Asunción	44	0.288	0.707	0.200	0.000	0.158	0.152	0.275	0.036	0.0000	0.156
Buenos Aires	675	0.213	0.790	0.299	0.000	0.428	0.405	0.295	0.016	-	-
Santiago	126	0.132	0.759	0.412	0.000	0.515	0.591	0.329	0.036	0.0350	-

B.

Poblaciones	Fca43	Fca 45	Fca96	Fca126
Barcelona	3 alelos: 122, 128 y 130	7 alelos: 149, 153, 155, 157, 159, 161 y 163	7 alelos: 207, 209, 215, 217, 219, 221 y 233	4 alelos: 143, 149, 155 y 157
Bolonia	3 alelos: 122, 128 y 130	6 alelos: 145, 147, 151, 157, 159 y 161	5 alelos: 179, 183, 205, 209 y 217	1 alelo: 141
Venecia	4 alelos: 121, 122, 128 y 130	3 alelos: 155, 158 y 161	3 alelos: 183, 205 y 209	4 alelos: 141, 143, 149 y 155
Florenia	4 alelos: 121, 122, 128 y 130	2 alelos: 145 y 159	4 alelos: 183, 185, 209, y 217	4 alelos: 141, 143, 145 y 155
Roma	3 alelos: 120, 122 y 128	4 alelos: 143, 145, 155 y 159	2 alelos: 205, y 209	3 alelos: 145, 155 y 157
Bogotá	2 alelos: 122 y 128	3 alelos: 149, 155 y 157	3 alelos: 203, 209, y 211	4 alelos: 141, 149, 153 y 157
Sao Paulo	3 alelos: 120, 122 y 132	6 alelos: 153, 155, 157, 159, 160 y 165	3 alelos: 187, 209 y 217	4 alelos: 141, 143, 145 y 149
Asunción	4 alelos: 122, 124, 128 y 130	4 alelos: 149, 151, 153 y 157	3 alelos: 183, 209 y 211	3 alelos: 141, 143 y 149
Napoli	2 alelos: 122, 128	5 alelos: 143, 149, 153, 157, 159	2 alelos: 209, 217	3 alelos: 143, 145, 149
Cinque Terra	3 alelos: 122, 128, 130	4 alelos: 145, 147, 149, 151	4 alelos: 183, 203, 29, 213	3 alelos: 141, 143, 145

Es interesante de resaltar el elevado número de alelos que se encontraron en esos cuatro loci microsátélites, lo que muestra el fuerte potencial de estos marcadores para la realización de estudios genético poblacionales de gatos asilvestrados en las ciudades. Por ejemplo, el marcador FCA96 mostró 13 alelos diferentes. Algunos de ellos se observaron únicamente en una población, como es el caso del alelo de 179 pares de bases (pb) encontrado en Bolonia o el alelo de 211 pb, que únicamente se encontró en los gatos de Bogotá y Asunción.

Una primera aproximación demostrativa del diferente tipo y magnitud de relaciones genéticas entre cada una de las poblaciones latinoamericanas estudiadas y diferentes fuentes europeas que pudieron dar lugar a las poblaciones de gatos en Latinoamérica fue mediante los tests de Student-Newman-Keuls (SNK), de Scheffé y la F de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch (REGW) a partir de las distancias promedio de Nei entre cada población y las diversas fuentes europeas. Como los resultados de este análisis son excesivamente extensos, únicamente se muestra la comparación entre la población de Bogotá y de La Habana (Cuadro 2). En el caso de Bogotá, la diferenciación de las diversas agrupaciones europeas respecto a esta población resultó notable, mostrando que el grupo de poblaciones españolas es el más cercano genéticamente (media del test SNK = 1.657). El test SNK mostró que el grupo de poblaciones españolas presentó la distancia de Nei promedio significativamente menor que las de los restantes conjuntos poblacionales europeos. El grupo portugués y el italiano no difirieron significativamente entre sí, aunque presentaron valores medios significativamente inferiores a los grupos franceses e ingleses (media del test SNK para Portugal e Italia = 4.171 y 3.238, frente a los mismos valores para las poblaciones francesas y británicas que fueron de 6.238 y 8.754, respectivamente). Esta última agrupación mostró un valor promedio significativamente superior a todos los demás grupos. El análisis REGW mostró aproximadamente los mismos resultados que en el caso anterior con una única excepción. El grupo de poblaciones españolas presentó un valor promedio significativamente menor que los restantes grupos europeos, excepto que el grupo italiano. Por último, el test de Scheffé mantuvo los mismos resultados con la excepción de que las agrupaciones portuguesa y francesa no difieren entre sí. En general, puede afirmarse que el grupo español es el que presentó de forma significativa una menor distancia promedio con la muestra de Bogotá, mientras que el grupo británico fue el que presentó una mayor diferenciación. En el caso de La Habana, la diferenciación entre las agrupaciones de poblaciones europeas es mucho más sutil que en el caso de Bogotá. No existieron diferencias significativas entre los grupos italiano, portugués, francés y británico. La agrupación española presentó un valor significativamente inferior al de los grupos francés e inglés, pero no al de los ensambles italiano y portugués. Los tres análisis ofrecieron idénticos resultados.

Relaciones genéticas utilizando características morfológicas entre poblaciones latinoamericanas de gatos y diferentes ensambles de poblaciones europeas y americanas

Se muestra el dendrograma UPGMA con la distancia de Prevosti (Fig. 1). En este análisis se refleja muy claramente la fuerte heterogeneidad que existe entre Bogotá y

Cuadro 2

Tests de Student-Newman-Keuls (SNK), de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch (REGW) y de Scheffé para los valores medios de la distancia de Nei de 5 agrupaciones europeas respecto a las poblaciones de gatos de Bogotá y de La Habana. Los genes de codificación morfológica utilizados en este análisis fueron O, A, T, D, L, S, y W. ***Diferencias significativas.

Prueba de Student-Newman-Keuls

BOGOTA				LA HABANA			
Poblaciones	N	Media	Agrupamientos SNK	Poblaciones	N	Media	Agrupamientos SNK
Britanicas	11	8.754		Francesas	5	9.602	
Francesas	5	6.238		Britanicas	11	9.388	
Portuguesas	7	4.171		Portuguesas	7	8.16	
Italianas	4	3.238		Italianas	4	7.527	
Españolas	10	1.657		Españolas	10	6.11	

Prueba de Ryan-Einot-Gabriel-Welsch

BOGOTA				LA HABANA			
Poblaciones	N	Media	Agrupamientos REGW	Poblaciones	N	Media	Agrupamientos REGW
Britanicas	11	8.754		Francesas	5	9.602	
Francesas	5	6.238		Britanicas	11	9.388	
Portuguesas	7	4.171		Portuguesas	7	8.16	
Italianas	4	3.238		Italianas	4	7.527	
Españolas	10	1.657		Españolas	10	6.11	

Prueba de Scheffé

BOGOTA				LA HABANA			
Comparación por Países	LCIS*	Diferencia de medias	LCSS**	Comparación por Países	LCIS*	Diferencia de medias	LCSS**
Britanicas - Francesas	0.335	2.516	4,696***	Britanicas - Francesas	-2.841	0.214	3.268
Britanicas - Portuguesas	2.628	4.582	6,537***	Britanicas - Portuguesas	-1.874	1.442	4.758
Britanicas - Italianas	3.156	5.516	7,876***	Britanicas - Italianas	-1.724	2.075	5.873
Britanicas - Españolas	5.33	7.097	8,863***	Britanicas - Españolas	0.39	3.492	6,594***
Francesas - Britanicas	-4.696	-2.516	-0,335***	Francesas - Britanicas	-3.268	-0.214	2.841
Francesas - Portuguesas	-0.3	2.067	4,434***	Francesas - Portuguesas	-1.51	1.228	3.966
Francesas - Italianas	0.289	3.001	5,712***	Francesas - Italianas	-1.446	1.861	5.167
Francesas - Españolas	2.367	4.581	6,795***	Francesas - Españolas	0.804	3.278	5,753***
Portuguesas - Britanicas	-6.537	-4.582	-2,628***	Portuguesas - Britanicas	-4.758	-1.442	1.874
Portuguesas - Francesas	-4.434	-2.067	0.3	Portuguesas - Francesas	-3.966	-1.228	1.51
Portuguesas - Italianas	-1.6	0.934	3.468	Portuguesas - Italianas	-2.917	0.633	4.182
Portuguesas - Españolas	0.522	2.514	4,507***	Portuguesas - Españolas	-0.741	2.05	4.841
Italianas - Britanicas	-7.876	-5.516	-3,156***	Italianas - Britanicas	-5.873	-2.075	1.724
Italianas - Francesas	-5.712	-3.001	-0,289***	Italianas - Francesas	-5.167	-1.861	1.446
Italianas - Portuguesas	-3.468	-0.934	1.6	Italianas - Portuguesas	-4.182	-0.633	2.917
Italianas - Españolas	-0.811	1.581	3.972	Italianas - Españolas	-1.933	1.417	4.768
Españolas - Britanicas	-8.863	-7.097	-5,330***	Españolas - Britanicas	-6.594	-3.492	-0,390***
Españolas - Francesas	-6.795	-4.581	-2,367***	Españolas - Francesas	-5.753	-3.278	-0,804***
Españolas - Portuguesas	-4.507	-2.514	-0,522***	Españolas - Portuguesas	-4.841	-2.05	0.741
Españolas - Italianas	-3.972	-1.581	0.811	Españolas - Italianas	-4.768	-1.417	1.933

* Límite de confianza inferior simultáneo

** Límite de confianza superior simultáneo

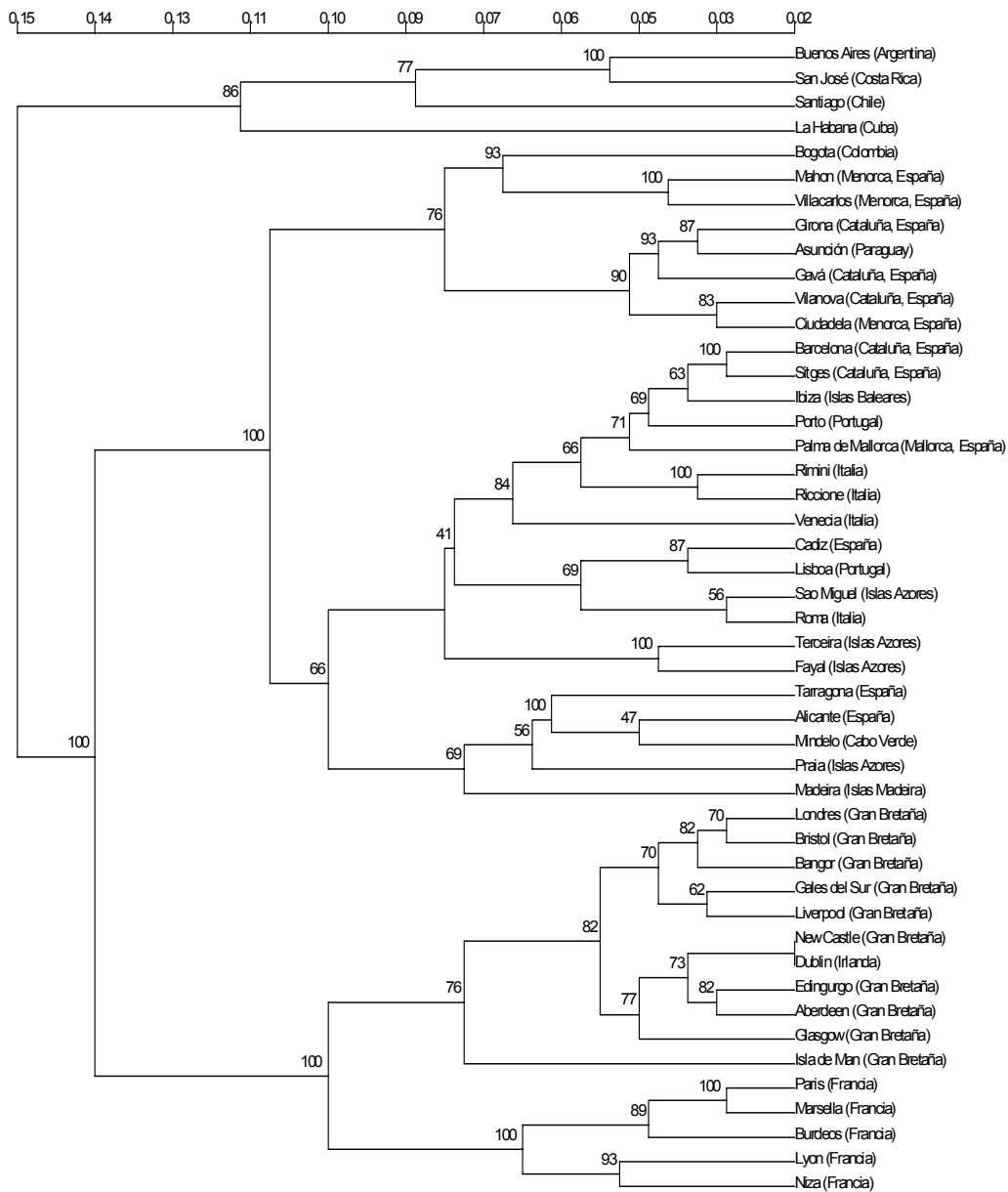


Figura 1

Árbol UPGMA con la distancia de Prevosti mostrando las relaciones genético-poblacionales entre 47 poblaciones europeas de gatos, incluyendo las seis poblaciones latinoamericanas estudiadas (La Habana, San José, Bogotá, Asunción, Buenos Aires y Santiago). Este análisis se realizó con los genes morfológicos O, A, T, D, L, S y W. Se analiza cuáles poblaciones europeas pudieran haber dado lugar a las poblaciones latinoamericanas estudiadas. Los números sobre las ramas de los árboles corresponden a los porcentajes de bootstrap.

Asunción en referencia a las otras poblaciones latinoamericanas respecto a sus relaciones con las diversas poblaciones europeas utilizadas. Mientras que Bogotá mostró una fuerte relación con ciertas poblaciones menorquinas, que, a su vez, están relacionadas con poblaciones catalanas de gatos, La Habana, Santiago, Buenos Aires y San José fueron la primera agrupación que divergió del resto de las poblaciones analizadas. Esto es, existe mayor similitud entre cualquier población europea, incluso entre las ibéricas y británicas, que entre algunas poblaciones hispanoamericanas y las ibéricas. Sin embargo, la población hispanoamericana que menos divergió de las españolas fue, claramente, Asunción, que quedó agrupada con algunas poblaciones catalanas, como Girona o Gavà. Los porcentajes de “bootstrap” mostraron la fuerte consistencia de los ensambles principales.

Un análisis MST (“Minimum Spanning Tree”) con la distancia de Nei mostró que Buenos Aires jugó un papel determinante en la conexión entre ciertas poblaciones europeas y latinoamericanas (Fig. 2a). Esta población se conectó con Palma de Mallorca (Baleares) y, simultáneamente, con Bogotá, Santiago y San José. Asunción mostró únicamente relaciones con poblaciones catalanas y no se conectó con ninguna otra población hispanoamericana. Se muestra, pues, que la población latinoamericana que ha recibido una mayor amalgama promedio de influencias procedentes de España y del resto de Latinoamérica es Buenos Aires. Se observó como a partir de Buenos Aires, Bogotá se diferencia en el mismo sentido que un grupo de poblaciones españolas, La Habana se diferenció notablemente en un sentido espacial que no manifestó ninguna otra población y estuvo conectada a la población de San José, que, a su vez, lo estuvo con la población argentina, y Santiago de Chile se diferenció en un sentido convergente al de las poblaciones británicas. El análisis K-means, suponiendo la existencia de cuatro agrupaciones diferentes, mostró los siguientes resultados (Fig. 2b). En un primer ensamble se observaron todas las poblaciones británicas y francesas, como fue hipotetizado “a priori”. En una segunda agrupación aparecieron casi todas las poblaciones catalanas, baleares, la población de Oporto (Portugal), dos poblaciones de las Azores y las tres poblaciones italianas adriáticas (Venecia, Rimini, Riccione). Junto con ellas aparecen las poblaciones de Bogotá y Asunción. Una tercera agrupación estuvo compuesta por otro grupo de poblaciones españolas (Tarragona, Alicante, Cádiz), la población portuguesa de Lisboa junto con las restantes islas atlánticas portuguesas analizadas, más la población italiana de Roma. El cuarto ensamble, tal como se hipotetizó, incluyó las restantes poblaciones latinoamericanas (La Habana, Santiago, Buenos Aires, San José). Por lo tanto, no todas las poblaciones latinoamericanas muestran el mismo grado de afinidad genética con las poblaciones españolas de las que pudieron originarse.

Se analizaron, también, las poblaciones latinoamericanas aquí presentadas junto con un grupo de más de 70 poblaciones americanas y 20 europeas (total 98 poblaciones). Esta otra agrupación es relevante ya que se puede observar, no tan solo la relación entre poblaciones europeas y las seis poblaciones latinoamericanas aquí reportadas sino también las relaciones entre esas mismas poblaciones respecto a otras poblaciones latinoamericanas anteriormente estudiadas y respecto a poblaciones

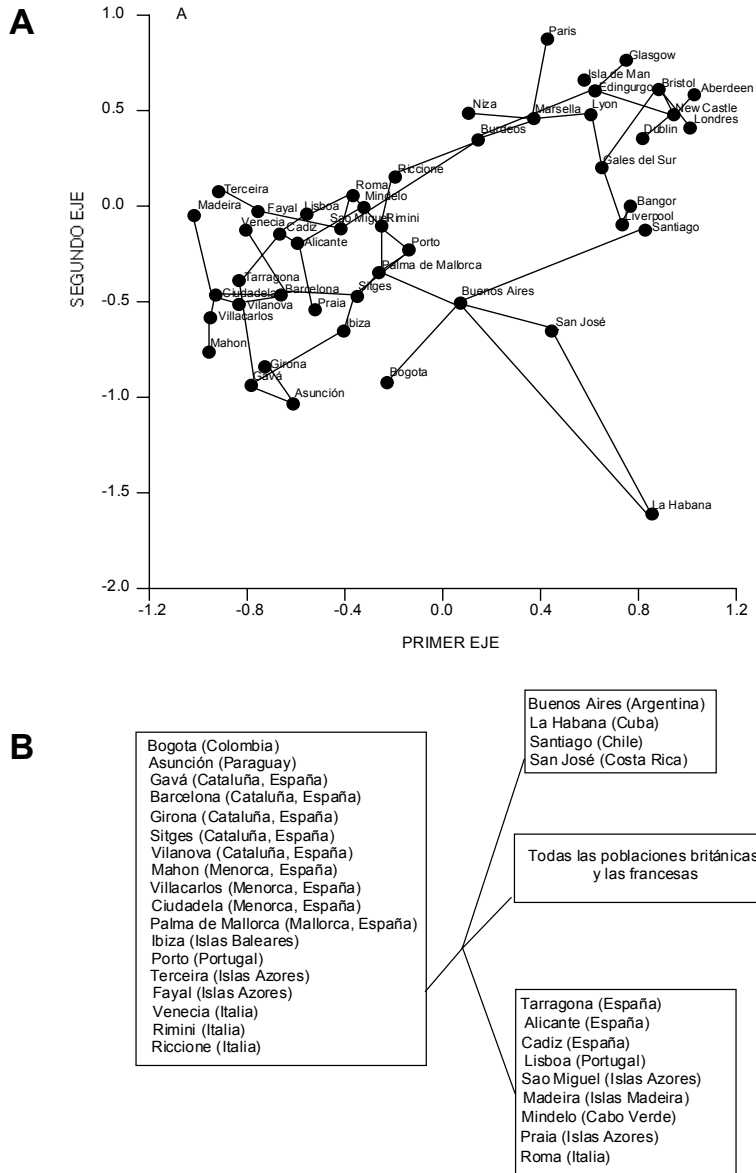


Figura 2

A. Arbol mínimo expandido utilizando la distancia de Nei con 47 poblaciones europeas de gatos, incluyendo las seis poblaciones latinoamericanas estudiadas (La Habana, San José, Bogotá, Asunción, Buenos Aires y Santiago). Este análisis se realizó con los genes morfológicos O, A, T, D, L, S y W. Se analiza qué poblaciones europeas pudieran haber dado lugar a las poblaciones latinoamericanas estudiadas. **B.** Análisis no jerárquico K-means con 47 poblaciones europeas de gatos, incluyendo seis poblaciones latinoamericanas (La Habana, San José, Bogotá, Asunción, Buenos Aires y Santiago). Las mismas condiciones que en el caso anterior.

norteamericanas. Igualmente, se pueden analizar las relaciones entre las poblaciones europeas y las norteamericanas. Uno de los análisis más ilustrativos fue el obtenido con el dendrograma UPGMA con la distancia de Nei. Este análisis claramente diferencia a las poblaciones americanas de presunto origen, y/o influencia ibérica, junto con las poblaciones del Sur de Europa (España, Portugal, Italia) del grupo integrado por las poblaciones de EU y canadienses, de presunto origen anglosajón, y las poblaciones británicas y francesas (Fig. 3). Las únicas excepciones que parecen no respetar esta dicotomía son la muestra de Santiago de Chile, que se asoció con el grupo de poblaciones norteamericanas anglo EU, Canadá y las poblaciones británicas, y un grupo de poblaciones del medio-oeste norteamericano (Stevens County, Omaha, Reno, etc), que se agruparon junto con las poblaciones americanas de presunto origen ibérico. Por ejemplo, es apreciable como las poblaciones colombianas de Bogotá e Ibagué son mucho más similares a ciertas poblaciones menorquinas, como Mahón, Villacarlos y Ciudadela, mientras que Buenos Aires y San José presentan similitudes con poblaciones de EU de presunto origen hispano, como Denver, o San Francisco. Esa falta de homogeneidad en el acervo genético latinoamericano de presunto origen hispano se pone de manifiesto, adicionalmente, al observar cómo las poblaciones de los Mochis (México), Caracas (Venezuela) y Willemstadt (Curazao) fueron mucho más similares a cierto grupo de poblaciones del sureste de Brasil que a las poblaciones de EU de origen hispano, a diferencia de lo que se observó para Bogotá o Buenos Aires. Asunción presentó una fuerte relación con ciertas poblaciones españolas y con ciertas poblaciones brasileñas. En el análisis de las posibles influencias de algunas poblaciones españolas y portuguesas en ese grupo de poblaciones latinoamericanas se observaron algunos resultados llamativos. Las poblaciones catalanas (Barcelona, Sitges, Girona) presentaron mayor parecido genético con algunas poblaciones brasileñas, especialmente, y a algunas poblaciones hispano americanas como Caracas y Los Mochis que a otras poblaciones como Bogotá, Buenos Aires, México o La Habana. Incluso, este muy fuerte parecido genético entre las poblaciones catalanas y las brasileñas fue mucho mayor que la similitud genética observada entre estas últimas y las portuguesas, como Lisboa y Oporto. Los ensambles principales fueron refrendados por elevados porcentajes de "bootstrap".

El resultado del análisis no jerárquico K-means, habiendo hipotetizado cuatro agrupaciones diferentes (Fig. 4) muestra que los cuatro ensambles obtenidos no se ajustaron exactamente a esa previsión. Una primera agrupación estuvo compuesta por la mayor parte de las poblaciones de EU de origen anglosajón y por las poblaciones canadienses con la excepción de 4 poblaciones del medio-oeste de los Estados Unidos y las poblaciones canadienses de Vancouver y St. Johns. Una segunda agrupación fue la compuesta por las poblaciones británicas y francesas, junto con las poblaciones canadienses de Vancouver y St. Johns, las poblaciones de EU de Cleveland y Duluth y la adición de la población caribeña de Jamaica (de remarcable origen británico). Estas dos primeras agrupaciones están en total concordancia con lo postulado por la hipótesis de la migración histórica para las poblaciones de gatos de origen británico. Sin embargo, las otras dos agrupaciones, dónde estuvieron ubicadas todas las

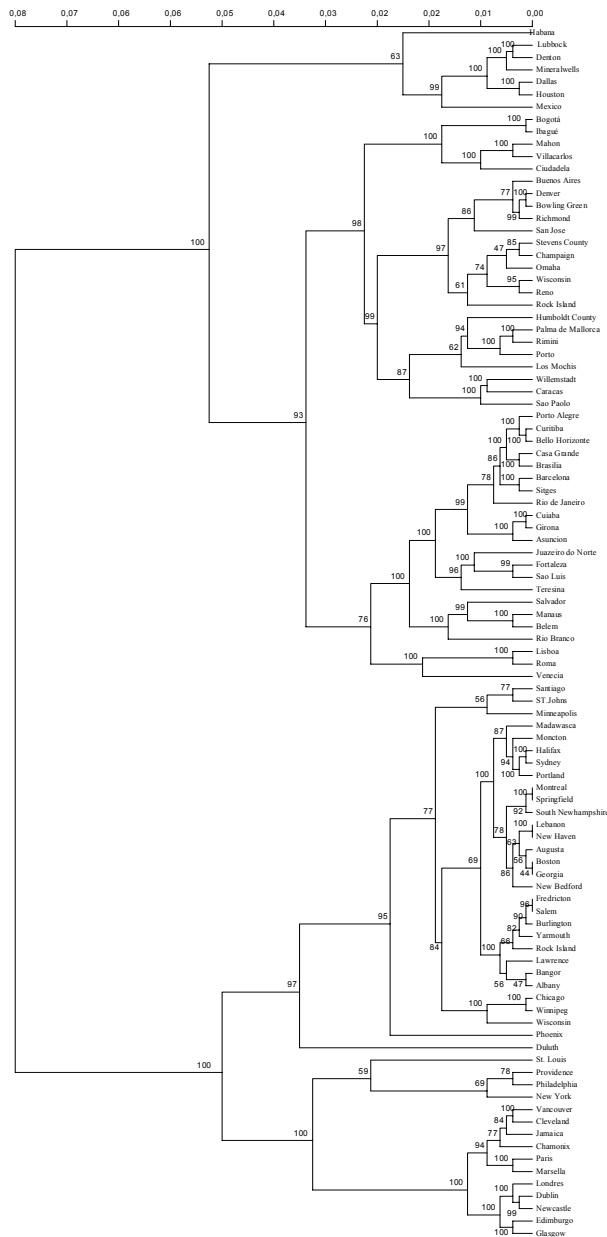


Figura 3

Arbol UPGMA con la distancia de Nei mostrando las relaciones genético-poblacionales con 98 poblaciones de gatos europeos y americanos (Norteamericanos y Latinoamericanos), incluyendo las seis poblaciones latinoamericanas de gatos aquí estudiadas. Este análisis se realizó con los genes morfológicos O, A, T, D, L, S y W. Este análisis fue llevado a cabo para determinar simultáneamente las relaciones genéticas de las poblaciones latinoamericanas estudiadas con otras poblaciones de gatos en Norteamérica, Europa y otras poblaciones latinoamericanas. Los números sobre las ramas de los árboles corresponden a los porcentajes de bootstrap.

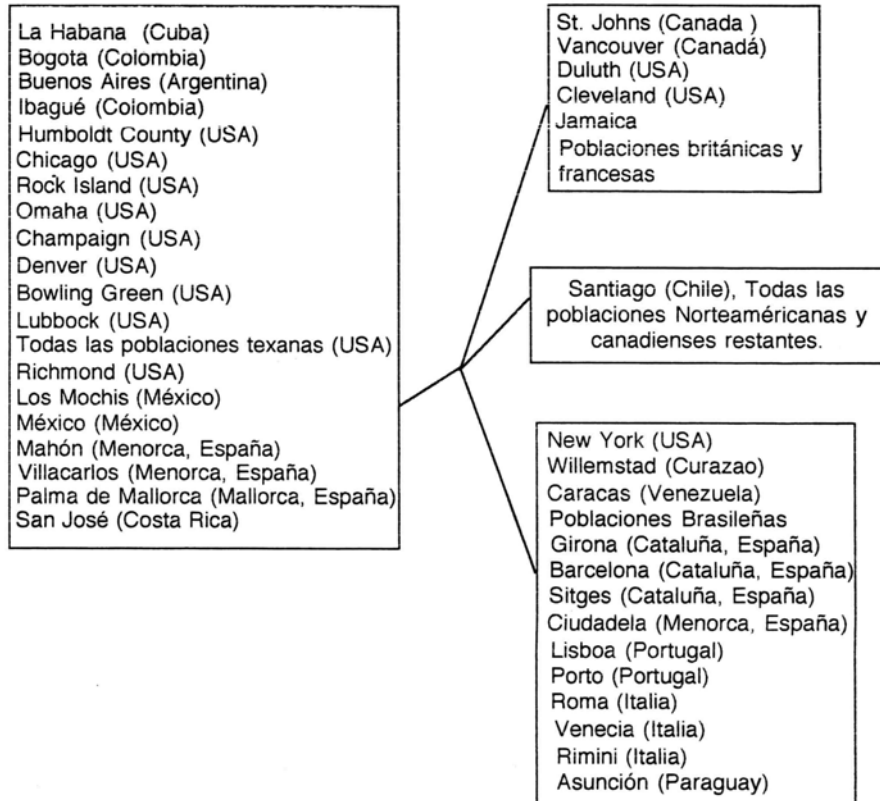


Figura 4

Análisis no jerárquico K-means hipotetizando la existencia de 4 grupos de poblaciones de gatos diferentes (británicas y francesas, norteamericanas de origen anglo y canadienses, ibéricas y latinoamericanas). Este análisis se realizó con los genes morfológicos O, A, T, D, L, S y W. Este análisis fue llevado a cabo para determinar simultáneamente las relaciones genéticas de las poblaciones latinoamericanas estudiadas con otras poblaciones de gatos en Norteamérica, Europa y otras poblaciones latinoamericanas.

poblaciones ibéricas y latinoamericanas, no se agruparon siguiendo el esquema ofrecido por las poblaciones de origen anglosajón. La tercera agrupación estuvo constituida por una parte de las poblaciones de origen hispano en Latinoamérica (La Habana, Bogotá, Ibagué, Buenos Aires, San José, y las poblaciones mexicanas de Los Mochis y Ciudad de México), las poblaciones hispanas en EU (Texas, Colorado, California), algunas poblaciones del medio-oeste de EU, que curiosamente no poseen una afinidad conspicua con las poblaciones de EU de origen británico, y tres poblaciones baleares (Mahón y Villacarlos en Menorca y Palma en Mallorca). Es decir, en ese ensamble se condensan algunas de las diferentes tendencias presentadas en

otros análisis. La cuarta agrupación estuvo integrada por todas las poblaciones brasileñas, las poblaciones de Caracas y Curazao, las poblaciones catalanas y la balear de Ciudadela (Menorca) y las poblaciones portuguesas (Lisboa y Oporto), más la población hispanoamericana que mayor similitud presenta con las poblaciones españolas, Asunción del Paraguay. Por lo tanto, no se distingue una mayor influencia de las poblaciones portuguesas en las poblaciones brasileñas de la influencia ejercida por las poblaciones españolas en estas últimas.

Un análisis de aislamiento por distancia con el método de Slatkin (1993) no detectó este evento entre las poblaciones latinoamericanas de gatos ($r = 0.089$; test de Mantel, $p = 0.6789$), lo cual contrasta con lo encontrado por Ruiz-García (1997) en la Europa occidental mediante autocorrelación espacial.

Relaciones genéticas con marcadores microsatélites entre algunas poblaciones latinoamericanas de gatos y algunas poblaciones europeas

Los análisis poblacionales haciendo uso de los marcadores microsatélites (Fig. 5) mostraron aspectos fuertemente concordantes con los obtenidos con los genes del pelaje. En uno de los árboles presentados (UPGMA con la distancia de Nei) se observa la fuerte relación de la muestra de Sao Paulo con la muestra de Barcelona y algunas muestras italianas, diferenciándose esa población brasileña de otras poblaciones de Latino América (Bogotá y Asunción, en este caso). Esta relación es altamente consistente con lo mostrado en la figura 3, donde se detectó una fuerte relación entre ciertas poblaciones del sur del Brasil y algunas poblaciones catalanas e italianas. Igualmente, el árbol UPGMA con la distancia $\delta\mu^2$ muestra la fuerte relación de Asunción con la población ibérica de Barcelona y la fuerte relación de Sao Paulo con la población de Roma, ratificando lo encontrado con los genes del pelaje en análisis anteriores.

DISCUSIÓN

Relaciones entre poblaciones de gatos hispanoamericanas y poblaciones europeas

Parece que no existe un paralelismo entre los cambios genéticos para el pelaje entre las poblaciones latinoamericanas y las poblaciones españolas actuales respecto al modelo constituido por las poblaciones coloniales británicas y las poblaciones británicas actuales (Blumenberg 1977b, Blumenberg & Lloyd 1980). Esto es, el modelo evolutivo británico no parece universal, contrariamente a lo insinuado por otros autores (Todd & Lloyd 1984, Blumenberg 1986, Lloyd 1987). Las poblaciones españolas parecen haber sufrido muchos menos cambios en las frecuencias alélicas para los genes del pelaje en los últimos siglos que el modelo británico. La fuerte melanización, especialmente por el aumento del alelo t^p en las poblaciones británicas, no se ha dado en una buena parte de las poblaciones españolas, al menos en las baleares y catalanas. Las frecuencias de t^p en muchas poblaciones españolas son similares a las observadas en las poblaciones hispanoamericanas. Bien es cierto, sin embargo, que ciertas poblaciones españolas, como Murcia (Ruiz-García 1991), Cádiz (Todd & Lloyd

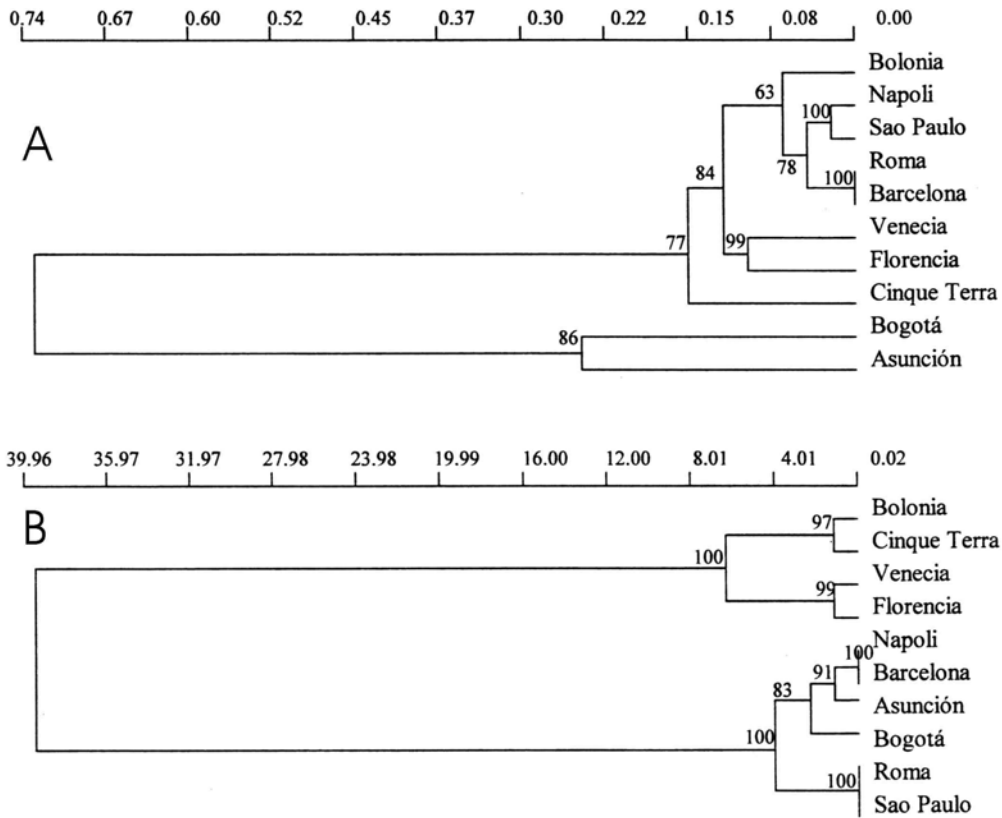


Figura 5

A. Árbol UPGMA con la distancia de Nei a partir de cuatro microsatélites de ADN (FCA43, FCA45, FCA96 y FCA126) aplicados a varias poblaciones italianas, Barcelona y a tres poblaciones latinoamericanas (Bogotá, Asunción y Sao Paulo). **B.** Árbol UPGMA con la distancia $\delta\mu^2$ con los cuatro microsatélites empleados (FCA43, FCA45, FCA96 y FCA126) aplicados a varias poblaciones italianas, Barcelona y a tres poblaciones latinoamericanas (Bogotá, Asunción y Sao Paulo).

1984) y Málaga (Ruiz-García, no publicado), que pudieron estar en el origen de muchas poblaciones hispanoamericanas poseen valores $q(t^b)$ bastante más elevados que los que se encuentran ordinariamente en las poblaciones hispanoamericanas. Es muy posible que este aumento de t^b , en esas poblaciones del sur de España, haya ocurrido por la existencia de un cierto flujo génico a través de rutas comerciales atlánticas procedentes de Gran Bretaña que han podido aumentar las frecuencias de ese alelo en esas poblaciones, al igual que en ciertas poblaciones portuguesas, como Lisboa (Todd & Lloyd 1984). Por otro lado, las frecuencias \underline{Q} y \underline{a} , en general, no son muy diferentes entre las poblaciones latinoamericanas y las españolas a diferencia de lo que ocurre entre las poblaciones británicas y las poblaciones coloniales de esta última potencia europea. Las dos frecuencias que, realmente, más diferencian a las

poblaciones hispanoamericanas y a las españolas son las correspondientes a los alelos d y l. Existen poblaciones hispanoamericanas que, sistemáticamente, presentan frecuencias de d superiores a las españolas. Tal es el caso de Bogotá, Buenos Aires, Santiago y San José. Este sería el único locus que podría presentar un paralelismo evolutivo al modelo británico. El caso del alelo l, que no tiene que ver con la melanización del pelaje, parece muy particular del "experimento español" ya que, ni siquiera, el "experimento portugués" presenta esas mismas características. Las poblaciones hispanoamericanas poseen frecuencias del alelo que confiere el pelo largo mucho más elevadas que las que se encuentran en las poblaciones españolas, con la excepción de la población de Asunción que presentó frecuencias muy similares a las encontradas en poblaciones españolas actuales. Debe recordarse que el análisis con los microsatélites de comportamiento, presuntamente neutral, también reveló una fuerte asociación entre Asunción y la población ibérica de Barcelona.

Aparentemente, las poblaciones analizadas no provienen de una única misma migración ya que existe claramente una heterogeneidad genética significativa entre las poblaciones hispanoamericanas estudiadas. Resulta discernible que una población como Asunción es prácticamente idéntica a ciertas poblaciones catalanas actuales. También, por ejemplo, la población de Bogotá resultó más similar a las actuales poblaciones españolas que lo que mostró la población de La Habana. Parece, pues, comprobable la existencia de múltiples eventos migrativos desde España, que pudieron ser diferentes en cuanto a su origen geográfico y diferentes en cuanto a las épocas en que estos movimientos se produjeron. La interpretación de estos resultados parece favorecer, por lo tanto, la hipótesis de múltiples y diferentes migraciones desde poblaciones españolas y, en ocasiones, también es indistinguible la posible influencia de poblaciones italianas e, incluso, portuguesas. Lo que resulta obvio, es que las poblaciones británicas y francesas no juegan un papel determinante en la fundación de esas poblaciones. Sin embargo, no se puede descartar totalmente el impacto que hayan tenido los efectos fundadores y la deriva genética en la constitución diferencial de las características genéticas de cada población de gatos en diversas ciudades latinoamericanas y, por lo tanto, en la contribución de la heterogeneidad genética entre ellas. No obstante, aunque no se poseen registros históricos de cuántos gatos fueron introducidos inicialmente en cada una de las ciudades estudiadas, esta es una especie frecuente y con una elevada tasa reproductiva (Natoli, 1985), de tal modo que, aunque la población fundadora fuera muy pequeña, en pocas generaciones la población podría haber crecido substancialmente. Nei *et al.* (1975) mostraron que si el crecimiento poblacional después de un cuello de botella es rápido en las siguientes generaciones, la pérdida de variabilidad genética es muy restringida. Probablemente por ese motivo los niveles de diversidad genética en todas las poblaciones latinoamericanas son elevados (Ruiz-García & Alvarez 2002). Además, Morrill & Todd (1978) y Ruiz-García (1990b) mostraron que una vez que una población humana alcanza los 30.000 habitantes humanos, su población de gatos puede haber alcanzado un número efectivo entre 1000 y 5000 individuos por lo que el impacto de la deriva genética es bastante limitado. Lo realmente interesante es que cada población latinoamericana estudiada alcanzó esa cifra demográfica humana en épocas diferentes. Por ejemplo, La Habana

alcanzó esa cifra durante el siglo XVI, mientras que Buenos Aires la alcanzó en 1790 y Bogotá en 1880 (Montenegro, 1997). Eso significa que en cada momento las influencias procedentes de Europa no tuvieron por qué ser las mismas y tampoco los gatos llegados con ellas (Lloyd, 1987). Tampoco existen datos que soporten que el nivel de variación genética en el genoma de la rata (complejo RT1.A) en Venezuela, otro organismo colonizador llegado con los europeos, se haya reducido significativamente como resultado de cuellos de botella debido a la migración transatlántica (Cramer *et al.* 1988).

No es fácil determinar a partir de qué poblaciones españolas se formaron las actuales poblaciones de gatos en Latinoamérica. Es posible que ciertas poblaciones hayan experimentado un efecto fundador, con actuación de la deriva genética más intensamente que otras. Igualmente otras poblaciones han podido recibir influencias genéticas diferentes a las de las poblaciones españolas en el momento de la conquista. Bajo ese prisma se podrían interpretar las relaciones de Santiago de Chile y de La Habana respecto a otras poblaciones latinoamericanas. La divergencia de La Habana respecto a otras poblaciones podría estar dada por un ligero aumento de la deriva genética en esta población en el momento de su formación, o porque en la zona Caribe existe algún factor selectivo sobre algún o algunos loci morfológicos que han desviado algo su perfil genético respecto a las poblaciones españolas originales, mientras que el parecido de Santiago con poblaciones norteamericanas de origen inglés podría deberse a flujo génico llegado a través de los barcos ingleses que arribaron frecuentemente durante el siglo XIX a las costas de este país, o bien a la acción de la deriva genética modificando las frecuencias de algunos alelos de forma aleatoria, pero coincidente con las que se encuentran en las poblaciones de gatos norteamericanas. No se debe descartar tampoco la posibilidad de que algunas características genéticas hayan cambiado en la Península Ibérica con el transcurso de los últimos cinco siglos. Por ejemplo, la población de La Habana no pudo ser relacionada más significativamente con las poblaciones españolas que con las italianas o portuguesas. Esto no ocurre con las poblaciones de Asunción (especialmente), Bogotá o Buenos Aires que son significativamente más similares a las poblaciones españolas que a cualquier otro grupo de poblaciones europeas. Bogotá resultó notablemente similar a un grupo de poblaciones menorquinas (Mahón y Villacarlos). Es probable que Mahón y Villacarlos no fueran directa y, mayoritariamente, el punto de origen de la mayor parte de las poblaciones hispanoamericanas, ya que son poblaciones menorquinas en el Mediterráneo que pertenecían, en el momento de la conquista inicial de América, a la corona catalano-aragonesa que no participó, en ese primer instante, en la conquista de las Américas. Sin embargo, esas pequeñas y aisladas poblaciones marítimas pueden ser representativas del acervo genético existente en poblaciones españolas antiguas que pudieron dar lugar a la colonización de la América hispana y que, posteriormente, resultaron modificadas por influencias británicas o por cualquier otro tipo de evolución. Por ejemplo, Lisboa no resultó especialmente similar a las poblaciones de las Azores, Madeira o Cabo Verde. Por el contrario, Lisboa y Cádiz resultaron muy similares probablemente por compartir un proceso similar de

"atlantización" procedentes de Gran Bretaña y Francia, principalmente. Otra hipótesis, quizá menos probable, es que algunas poblaciones de gatos en hispanoamérica no se hubieran fundado realmente en los primeros dos siglos de la colonización, sino que empezasen a constituirse a partir del siglo XVIII, cuando otros puertos españoles no andaluces, incluyendo los mediterráneos, pudieron ya comerciar de forma intensa con Latinoamérica.

Es interesante resaltar que algunas poblaciones latinoamericanas, aún estando distantes a miles de kilómetros, presentaron relaciones genéticas mucho más intensas entre sí que con cualquier población europea, mientras que otras presentaron una más conspicua relación con algunas poblaciones europeas que con cualquiera de las otras poblaciones latinoamericanas. Mientras que en la Europa occidental sí se detectó aislamiento por distancia y clinas monótonicas para ciertos alelos y de forma global (Ruiz-García 1997), en Latinoamérica no se detectó aislamiento por distancia al emplear el método de Slatkin (1993), lo cual muestra que en este continente la similitud genética de sus poblaciones de gatos es más dependiente de cómo se distribuyeron las potencias europeas en él, que de los procesos biológicos *in situ* que pudieron darse en sus poblaciones de gatos. Respecto al primer caso, Buenos Aires y San José se parecen más entre sí que cualquiera de ellas respecto a las poblaciones españolas estudiadas. No obstante, ambas, en la mayor parte de los análisis, presentaron mayor similitud a la mayoría de las poblaciones españolas que a La Habana, Caracas o Ciudad de México. A su vez, Asunción presentó mayor relación directa con poblaciones españolas y brasileñas que con cualquier otra población hispanoamericana, tanto con los genes del pelaje como con los microsatélites. Igualmente, con ambos tipos de marcadores, la población de gatos de Sao Paulo estuvo mucho más relacionada con las poblaciones españolas o italianas que con las poblaciones de otras partes de Latinoamérica, como Bogotá o San José. También, Caracas, con los genes del pelaje, presentó mayor similitud a las poblaciones españolas que a Bogotá.

Resulta evidente que Asunción fue la que menos divergencia presentó respecto a ciertas poblaciones españolas. Esto puede interpretarse de varios modos. O bien, el área de Paraguay y, probablemente, el Sur del Brasil recibieron una mayor, y más directa cantidad de gatos procedente de España que el resto de Latinoamérica, desde un inicio de la colonización (Ruiz-García 2000), o bien, son las poblaciones más recientemente conformadas, desde el punto de vista temporal, a partir de una fuente española de todo el área de Latinoamérica estudiada hasta la fecha (Welna 1990). También, en los análisis MST se puso de manifiesto que Buenos Aires es una población que puede poseer esas características.

Parece existir mayor introgresión genética del acervo de origen español en las poblaciones brasileñas que de poblaciones portuguesas en las poblaciones americanas de origen hispano. Algunas de las poblaciones españolas actuales (catalanas y baleares, especialmente) presentaron mayor similitud genética con las poblaciones de Asunción, Caracas, Curazao y ciertas poblaciones del sur del Brasil que con las otras poblaciones hispanoamericanas. Este parecido entre ciertas poblaciones españolas y ciertas poblaciones brasileñas es superior, en todos los casos, a la similitud genética encontrada entre cualquier población portuguesa y cualquier población brasileña. Por

ejemplo, se observó una fuerte similitud de Porto Alegre (Brasil) con poblaciones de EU de origen hispano (San Francisco) y con poblaciones catalanas, como Sitges, o la conspicua similitud genética entre Girona y Cuiaba (Amazonía brasileña) o Barcelona con Río de Janeiro o Brasilia. Resulta notablemente interesante observar como al utilizar marcadores microsatélites, Sao Paulo (Brasil) presentó una muy fuerte relación genética con algunas poblaciones italianas. Recordemos que en los últimos 150 años, dos millones de italianos arribaron al estado brasileño de Sao Paulo. Hoy en día sus descendientes alcanzan los 25 millones de brasileños (Parés 1956), lo que podría explicar la fuerte relación genética de los gatos de Sao Paulo con algunas poblaciones italianas. Sin embargo, el número de poblaciones portuguesas analizadas es muy pequeño y, todavía, no poseemos una comprensión clara de la composición genética de esas poblaciones. Esa aparente influencia de poblaciones españolas en el sur del Brasil puede deberse a dos hechos: Existencia de una influencia directa española a través del Río de la Plata (Fisher 1981) y/o una influencia de naturaleza indirecta (Wheaton 1990). Esas poblaciones españolas, que presentan fuerte similitud con poblaciones brasileñas, pueden representar un acervo genético antiguo ibérico que no se ha modificado por posteriores influencias de la Europa Occidental, a diferencia, por ejemplo, de lo ocurrido con las poblaciones de Lisboa y, en menor grado, con la población de Oporto. Si fuera así, esas poblaciones españolas serían muy similares a las poblaciones ibéricas portuguesas que pudieron dar lugar a las poblaciones del sur del Brasil. Sin embargo, esta segunda hipótesis no explicaría por qué las poblaciones del Norte del Brasil no siguen esa misma dinámica poblacional. Algunas poblaciones portuguesas, como Oporto y dos poblaciones de las Azores (Terceira y Faial) fueron más similares, en ciertos análisis, a algunas poblaciones españolas e hispanoamericanas que a las restantes poblaciones portuguesas estudiadas. Esto reafirma la posibilidad de la existencia de un acervo génico original común en el Sur de Europa, relativamente homogéneo hace cinco siglos y que, posteriormente, en forma de parches asistemáticos geográficamente, y no necesariamente continuos, fueron modificados por influencias procedentes de Gran Bretaña. Lo anterior explicaría que poblaciones como Barcelona, Oporto y Venecia se agrupen conjuntamente, lo que significaría que estas poblaciones no han sido fuertemente modificadas por la evolución característica que en los últimos siglos ha afectado a las poblaciones británicas y francesas, especialmente.

Existencia de similitud entre los resultados obtenidos con genes morfológicos y marcadores moleculares

Aunque el número de poblaciones latinoamericanas de gatos estudiados con cuatro marcadores microsatélites es muy limitado, algunos trazos fundamentales coinciden con los resultados hallados con los genes que controlan el pelaje (fuerte similitud de Asunción con Barcelona; fuerte relación de Sao Paulo con poblaciones italianas y Barcelona). Esto significa que el conjunto total de los genes que controlan el pelaje, utilizados en este estudio, posee una dinámica global de naturaleza neutral. Es posible que ciertos genes, como t^b , pudieran estar sometidos a ciertos eventos selectivos como ocurre en Gran Bretaña, aunque esto no se detectó entre las poblaciones españolas

y las latinoamericanas, o como S, que confiere el manchado de blanco en el pelaje, y que en un clima tropical como el de la Habana pudiera estar favorecido desde una perspectiva selectiva. Sin embargo, considerando de forma global las relaciones que se observan entre las poblaciones estudiadas, podemos afirmar que los genes morfológicos analizados responden más bien a una dinámica de evolución neutral, donde la deriva genética y el flujo génico a partir de las poblaciones europeas de origen fueron más relevantes que los fenómenos de origen selectivo en modelar sus frecuencias alélicas actuales.

Para poseer una comprensión más exacta del proceso evolutivo y de las rutas de colonización en las Américas por parte del gato doméstico, deben muestrearse intensivamente un mayor número de poblaciones en el Caribe, Centroamérica y ciertos puntos de Sudamérica, al igual que en el sur de la Península Ibérica. En idéntico sentido deben incrementarse el número de marcadores moleculares a ser utilizados, tanto a nivel nuclear como mitocondrial. En futuros estudios emplearemos 25 microsatélites y secuencias de la región de control mitocondrial para establecer con más exactitud cómo se ha dado la evolución de las poblaciones de gato doméstico en Latinoamérica en los últimos cinco siglos de historia.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos enfáticamente la ayuda prestada por multitud de habitantes de las ciudades muestreadas en el momento de buscar y encontrar los animales analizados. En el caso de La Habana, agradecemos muy especialmente la ayuda prestada por el Dr. Berovides y por "Danielito" durante el muestreo y a la Dra. S. Díaz por su ejemplar hospitalidad. En el muestreo de Bogotá, la ayuda del Magister Héctor Campos fue indispensable. La Dra. A. Kajon, también, fue trascendente para la obtención de los datos de Santiago y Buenos Aires. Por último agradecer de forma especial las ayudas económicas recibidas por parte de la Pontificia Universidad Javeriana para llevar a cabo parte de los viajes a las poblaciones analizadas, a través del Decano de la Facultad de Ciencias (Dr. Carlos Corredor) y de la Vicerectoría Académica. Este trabajo es dedicado a la memoria del Dr. Roy Robinson y de Spencer, Olaf, Twin, Chiki y Erik.

LITERATURA CITADA

- Belyaev, D.C. & L.N. Trut.** 1975. Some genetic and endocrine effects of selection for domestication in silver foxes. Pp. 416-426. In: M.W. Fox (ed). *The Wild Canids*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Blumenberg, B.** 1977 a. Genetic difference and selection in domestic cat populations of the United Kingdom and former British colonies. *Theor. Appl. Gen.* 49: 243-247.
- _____. 1977b. Mutant allele frequencies in the domestic cats of eastern Massachusetts. *Genetica* 49: 9-14.
- _____. 1986. Historical population genetics of *Felis catus* in Humboldt County, California. *Genetica* 68: 81-86.
- Blumenberg, B. & A.T. Lloyd.** 1980. Mutant allele frequencies in the domestic cat: a preliminary discussion of selection with particular reference to the United Kingdom and Eire. *Genetica* 54: 17-28.

- Borodin, P.M.** 1981. Phenotype and gene frequencies in red fox populations of Russian America in 1803-1832. *J. Hered.* 72: 343-346.
- Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Cats.** 1968. Standardized genetic nomenclature for the domestic cat. *J. Hered.* 59: 39-49.
- Cramer, D.V., A. Chakrabarti, O. Arenas, J. Humprires & P.A. Mowery.** 1988. Genetic diversity within and between natural populations of *Rattus norvegicus*. *J. Hered.* 79: 319-324.
- Dards, J.L.** 1978. Home ranges of feral cats in Portsmouth dockyard. *Carnivore Genetics Newsletters* 3: 242-255.
- Doyle, J.J. & J.L. Doyle.** 1987. DNA extraction by using DTAB-CTAB procedures. *Phytochem. Bull.* 19: 11-17.
- Einot, I. & K.R. Gabriel.** 1975. A study of the powers of several methods of multiple comparisons. *J. Amer. Stat. Assoc.* 70: 351.
- Felsenstein, J.** 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Fisher, J.R.** 1981. Imperial "Free Trade" and the Hispanic Economy, 1778-1796. *J. Lat. Amer. Stud.* 13: 21-56.
- Goldstein, D. B., A. Ruiz-Linares., L.L. Cavalli-Sforza & M. W. Feldman.** 1995. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics* 139: 463-471.
- Izawa, M.** 1984. Ecology and social systems of the feral cats (*Felis catus*). Tesis de Ph. D. no publicada. Uyshu University, Japan. 230 pp.
- Izawa, M., T. Doi. & Y. Ono.** 1982. Grouping patterns of feral cats (*Felis catus*) living on a small island in Japan. *Jap. J. Ecol.* 32: 373-382.
- Keeler, C.** 1942. The association of the black (non agouti) gene with behaviour in Norway rat. *J. Hered.* 33: 371-384.
- _____. 1947. Modification of brain and endocrine glands, as an explanation of altered behaviour trends, in coat-character mutant strains of the Norway rat. *J. Tennessee Acad. Sci.* 12: 202-209.
- _____. 1975. Genetics of behaviour variations in color phases of the red fox. Pp. 399-417. In: M.W.Fox (Ed). *The Wild Canids*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Keeler, C., T. Mellinger., E. Fromm. & L. Wade.** 1970. Melanin, adrenalin and the legacy of fear. *J. Hered.* 61: 81-88.
- Keeler, C. & L. Moore.** 1961. Psychosomatic synthesis of behavioural trends in the taming of mink. *Bull. Georgia Acad. Sci.* 24: 125-130.
- Keeler, C., S. Ridgway., L. Lipscomb. & E. Fromm.** 1968. The genetics of adrenal size and tameness in colour phase foxes. *J. Hered.* 59: 82-94.
- Lloyd, A.T.** 1987. Cats from history and history from cats. *Endeavor* 11: 112-115.
- Lloyd, A.T. & N.B. Todd.** 1989. *Domestic cat gene frequencies: A catalog and bibliography*. Tetrahedron publications. Newcastle Upon Tyne, UK. 56 pp.
- Mantel, N.A.** 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27: 209-220.
- Menotti-Raymond, M.A. & S.J. O'Brien.** 1995. Evolutionary conservation of ten Microsatellite loci in four species of Felidae. *J. Hered.* 86: 319-322.
- Montenegro, L.** 1997. *Geografía humana de Colombia. Pobladores Urbanos*. Instituto Colombiano de Cultura Hispánica. Tomo X. 234 pp.
- Morril, R.B. & N.B. Todd.** 1978. Mutant allele frequencies in the domestic cats of Denver, Colorado. *J. Hered.* 69: 131-134.
- Natoli, E.** 1985. Spacing patterns in a colony of urban stray cats (*Felis catus*) in the historic centre of Rome. *Appl. Anim. Ethol.* 14: 289-304.

- Nei, M.** 1972. Genetic distance between populations. *Amer. Nat.* 106: 283-292.
- Nei, M., T. Maruyama & R. Chakraborty.** 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29: 1-10.
- Pares, R.** 1956. *War and Trade in the West Indies, 1739-1763.* The Clarendon Press, Oxford. 714 pp.
- Prevosti, A.** 1974. La distancia genética entre poblaciones. *Miscellanea Alcobé. Publicacions Universitat de Barcelona*, 109-118.
- Robertson, A. & W.G. Hill.** 1984) Deviations from Hardy-Weinberg proportions, sampling variances and use in estimation of inbreeding coefficients. *Genetics* 107: 703-718.
- Robinson, R.** 1972. Mutant gene frequencies in cats of Cyprus. *Theor. Appl. Gen.* 42: 293-296.
- _____. 1977. *Genetics for Cat Breeders.* Pergamon Press, Oxford. UK. 169 pp.
- _____. 1980. Evolution of the domestic cat. *Carnivore Genetics Newsletters* 4: 46-56.
- _____. 1987. Mutant gene frequencies in cats of the Greater London area. *Theor. Appl. Gen.* 74: 579-583.
- Robinson, R. & M. Silson.** 1969. Mutant allele frequencies in cats of Southern England. *Theor. Appl. Gen.* 39: 326-329.
- Ruiz-García, M.** 1990a. Mutant allele frequencies in the domestic cat populations in Catalonia, Spain, and their genetic relationships between Spanish and English colonial cat populations. *Genetica* 82: 209-214.
- _____. 1990b. Mutant allele frequencies in the domestic cat populations on the Spanish Mediterranean Coast, and their genetic distances from other European and North African cat populations. *Genetica* 82: 215-221.
- _____. 1991. Más sobre 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.
- _____. 1994. Genetic profiles from coat genes of natural Balearic cat populations: An Eastern Mediterranean and Northafrican origin. *Gen. Selec. Evol.* 26: 39-64.
- _____. 1997. Genetic relationships among some new cat populations sampled in Europe: A spatial autocorrelation analysis. *J. Gen.* 76: 1-24.
- _____. 2000. Is there really natural selection affecting the \downarrow frequencies (long hair) in the Brazilian cat populations?. *J. Hered.* 91: 49-57.
- Ruiz-García, M. & D. Álvarez.** 1999. Análisis filogenético de 21 poblaciones latinoamericanas de gatos mediante 10 loci morfológicos utilizando métodos de matrices de distancias genéticas y de máxima parsimonia. *Bol. Real Soc. Españ. Hist. Nat.* 95: 143-168.
- _____. 2002. A Biogeographical population genetics perspective of the cat colonization of Latin America: Determination of diverse gene pools and some historical explanations. *Genes and Genetic Systems* 77 (en prensa).
- Ryan, T.A.** 1960. Significance tests for multiple comparisons of proportions, variances, and other statistics. *Psychol. Bull.* 57: 318-328.
- Sambrock, J., E.F. Fritsch & T. Maniatis.** 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual.* 2nd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. 987 pp.
- Schlotterer, C.** 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma* 109: 365-371.
- Slatkin, M.** 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47: 264-279.
- Smouse, P.E., J.C. Long & R. R. Sokal.** 1986. Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Syst. Zool.* 35: 627-632.
- Sneath, P.H. & R.R. Sokal.** 1973. *Numerical Taxonomy.* W.H. Freeman, San Francisco. 516 pp.
- Spath, H.** 1980. *Cluster Analysis algorithms.* Ellis Horwood, Chichester, Gran Bretaña. 213 pp.

Ruiz-García & Alvarez: *Genética de Poblaciones de gatos Latinoamericanos*

- Todd, N.B.** 1977a. Cats and Commerce. *Scien. Amer.* 237: 100-107.
_____. 1977b. The dynamics of owned domestic cat populations. *Carnivore Genetics Newsletters* 3: 100-124.
- Todd, N.B. & A. T. Lloyd.** 1984. Mutant allele frequencies in the domestic cats of Portugal and the Azores. *J. Hered.* 75: 495-497.
- 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.
- Welna, D.** 1990. Brazil. Pp. 172-221. *In:* T. Perrottet (Ed). *South America*. Apa Publications (HK) Ltd. 417 pp.
- Welsch, R.E.** 1977. Stepwise multiple comparison procedures. *J. Amer. Stat. Assoc.* 72: 359.
- Wheaton, K.** 1990. Paraguay. Pp. 223-237. *In:* T. Perrottet (Ed). *South America*. Apa Publications (HK) Ltd.
- Wright, M. & S. Walters.** 1982. *El gato*. Ed. Blume, Barcelona. 225 pp.
- Wright, S.** 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15: 323-354.

Recibido: 8 de noviembre 2001

Aceptado: 19 de febrero 2003