

UCH-FC  
B. Ambiental  
F 363  
C. 1



UNIVERSIDAD DE CHILE-FACULTAD DE CIENCIAS-ESCUELA DE PREGRADO



**Comparación entre el tamaño poblacional efectivo y tamaño poblacional en el  
marsupial *Thylamys elegans* (Orden: *Didelphimorphia*, Familia: *Didelphidae*) en  
Rinconada de Maipú**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los  
requisitos para optar al Título de Licenciado en Ciencias ambientales con mención en  
Biología

**CAROLINA FERNÁNDEZ ANABALÓN**

Director del Seminario de Título: Rodrigo Vásquez Salfate

Septiembre 2015

Santiago-Chile



## INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, que el Seminario de Título presentado por la candidata:

**CAROLINA VICTORIA FERNÁNDEZ ANABALÓN**

**“Comparación entre el tamaño poblacional efectivo y tamaño poblacional en el marsupial *Thylamys elegans* (Orden: *Didelphimorphia*, Familia: *Didelphidae*) en Rinconada de Maipú”**

Ha sido aprobado por la Comisión evaluadora y revisora, como requisito parcial, para optar al título profesional de Bióloga con Mención en Medio Ambiente.

Dr. Rodrigo Vásquez Salfate  
Director Seminario de Título

Dr. Enrique Bazán León  
Co-Director Seminario de Título

### Comisión Revisora y Evaluadora

Dr. David Veliz Baeza  
Presidente Comisión

Dr. Javier Simonetti Zanelli  
Evaluador

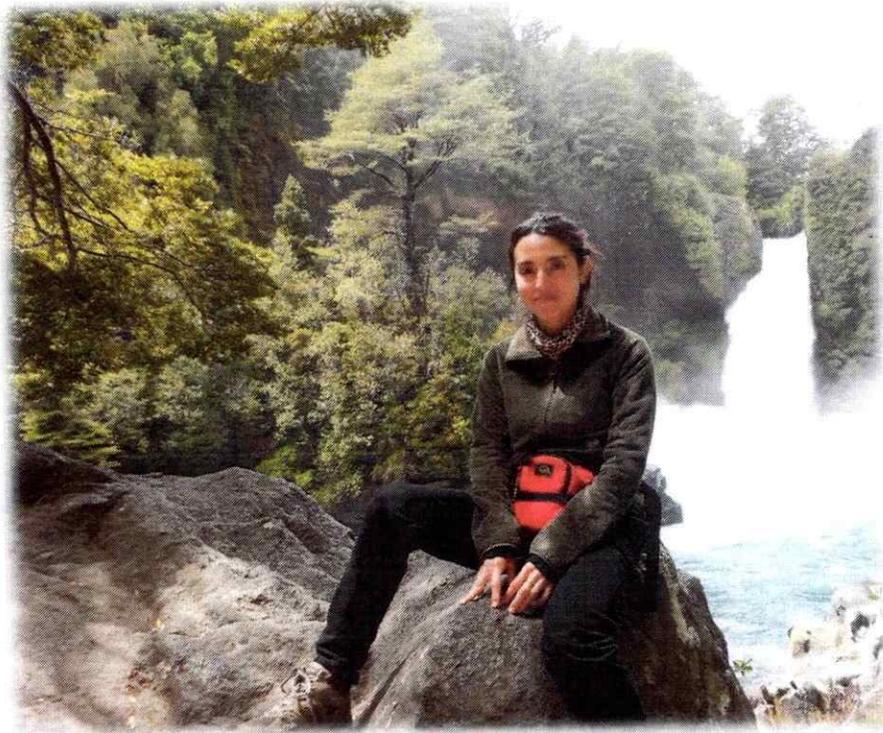


Santiago de Chile, septiembre 2015.

Santiago-Chile

## BIOGRAFÍA

Mi nombre es Carolina Victoria Fernández Anabalón, nací el 9 de agosto de 1987. El año 2007 entré a la carrera de Licenciatura en Ciencias con mención en biología en la Universidad de Chile. Sin embargo, casi al terminar Licenciatura en Biología, y al haber cursado una serie de electivos correspondientes a Biología Ambiental, tomé la decisión de terminar ambas carreras. Cuando estaba terminando mis estudios de pregrado, entré como ayudante de terreno al laboratorio de conducta animal del Dr. Rodrigo Vásquez, participando en trabajos de campo y laboratorio, los cuales eran parte de la tesis doctoral de Enrique Bazán. Desde entonces, aumentó mi interés por la línea de investigación del Dr. Vásquez y opté por realizar mi tesis en ese laboratorio tomando a *Thylamys elegans* como modelo de estudio.



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer a las fuentes de financiamiento, los proyectos ICM-P05-002, PFB-23-CONICYT y FONDECYT 1140548.

A mi tutor, el Dr. Rodrigo Vásquez y co-tutor Enrique Bazán, por sus grandes consejos, enseñanzas y por todo el apoyo material y académico otorgado durante el transcurso de mi investigación.

A los revisores de esta tesis, Los Dres. David Véliz y Javier Simonetti, por sus consejos y grandes aportes a esta tesis.

A mis compañeros de laboratorio, por el grato ambiente, apoyo y risas que compartimos durante todo el desarrollo de este trabajo.

A mis amigos, por las risas, comprensión y cariño,

A mi hermosa familia, mis padres y mi hermana por el apoyo, comprensión y amor que siempre me han entregado y sobre todo en aquellos momentos difíciles.

Y finalmente a Ernesto, por su amor y por ser como es.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

BIOGRAFÍA .....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	iv
ÍNDICE DE TABLAS .....	v
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
INTRODUCCIÓN.....	2
MÉTODOS .....	8
RESULTADOS .....	16
DISCUSIÓN.....	21
CONCLUSIONES.....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	28

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Abundancias y densidades poblacionales de <i>T. elegans</i> estimadas durante los muestreos estacionales en los años 2012 y 2013. ....	16
<b>Tabla 2.</b> Secuencias de los partidores y sus características para 5 loci de microsatélites... 17	
<b>Tabla 3.</b> Ne y razón Ne/N estimadas durante la temporada reproductiva de <i>T. elegans</i> durante los años 2012 y 2013. Nótese que los valores de N corresponden a la abundancia poblacional estimada a partir del censo.....	17
<b>Tabla 4.</b> OSR estimada a partir de las capturas de machos (m) y hembras (f) durante los años 2012 y 2013 en Rinconada de Maipú. Se muestran los resultados de la prueba binomial para la OSR, destacándose la probabilidad significativa para el año 2012.....	18
<b>Tabla 5.</b> Número de individuos capturados en los periodos reproductivos y número de crías con madre y padre identificados, con al menos uno y sin padres identificados.....	18
<b>Tabla 6.</b> Resultados del análisis de proporción de camadas con múltiple paternidad en los dos periodos reproductivos.....	19
<b>Tabla 7.</b> Resultado de las medidas calculadas del éxito reproductivo de los individuos en los periodos reproductivos 2011-2012 y 2012-2013. Se muestra el número de individuos (N), media ( $\bar{X}$ ), varianza (S <sup>2</sup> ), desviación estándar (DE), coeficiente de variación (CV) y la oportunidad para la selección (I).....	20

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Transectos construidos en la Estación Experimental Germán Greve Silva – Rinconada de Maipú.....	9
---	---

## RESUMEN

En la literatura se ha discutido sobre las similitudes y diferencias entre el tamaño poblacional efectivo ( $N_e$ ) y el tamaño poblacional ( $N$ ) en las poblaciones naturales. Idealmente deberían ser similares, pero en la práctica se ha encontrado que el  $N_e$  es bastante inferior al  $N$ . Los factores que explican esta diferencia pueden ser variados. En el presente estudio se trabajó con *Thylamys elegans*, una de las cuatro especies de marsupiales chilenos. Fue descrita la relación  $N_e/N$  de una población en el sector de Rinconada de Maipú. Para ello, se realizó primero un censo y luego, se realizaron análisis genéticos para la estimación del  $N_e$ . El resultado del censo mostró variaciones estacionales e interanuales en el  $N$ . A su vez, los valores de la razón  $N_e/N$  fueron 0,2 el 2012 y 0,5 el 2013. La diferencia observada de un año a otro en la razón  $N_e/N$  podría deberse a la razón de sexos operacional sesgada hacia uno de los dos sexos, la varianza reproductiva de los individuos y a la presencia de múltiple paternidad.

## ABSTRACT

In the literature, it has been discussed the similarities and differences between the effective population size ( $N_e$ ) and the population size ( $N$ ) in natural populations. Ideally these numbers should be similar, but in practice it has been found that  $N_e$  is well below  $N$ . The factors that could explain this difference can be varied. In the present study I worked with *Thylamys elegans*, one of four species of Chilean marsupials. I described the  $N_e/N$  ratio of a population at Rinconada de Maipú. First, a census was conducted from which the  $N$  was calculated and then a genetic analysis was carried out to estimate  $N_e$ . The census results showed seasonal and inter-annual variations in  $N$ . In turn, the ratios  $N_e/N$  values were 0.2 in 2012 and 0.5 in 2013. The observed difference from one year to another in the  $N_e/N$  ratio could be due to the biased operational sex ratio towards one of the two sexes, the reproductive variance of individuals and the presence of multiple paternity

## INTRODUCCIÓN

Evidencias en la literatura han señalado que la diferencia entre el tamaño poblacional efectivo ( $N_e$ ) y el tamaño poblacional ( $N$ ) ha sido un tema controversial (Frankham, 1995). Conocer la magnitud de estos dos parámetros, expresados como la razón  $N_e/N$ , permite comprender los riesgos en la alteración de los factores demográficos, ambientales y/o genéticos implicados en la persistencia poblacional, dado que generalmente el  $N_e$  es bastante inferior al  $N$  en las poblaciones silvestres (Palstra & Ruzzante 2008, Palstra & Fraser 2012). La comprensión de la razón  $N_e/N$  puede revelar qué factores ecológicos generan esta diferencia (Palstra & Ruzzante 2012), de manera que tales conocimientos, contribuyan a una mayor eficacia en la toma de decisiones en conservación (Kalinowski & Waples 2002).

El  $N_e$  fue definido por Wright (1931; 1938) como el tamaño de una población ideal (Fisher, 1930; Wright, 1931) cuya composición genética es influenciada por procesos aleatorios, dando lugar a la misma variabilidad genética que la población real estudiada. El  $N_e$  incorpora la información que determina las consecuencias evolutivas que los miembros de una población contribuyan de manera no azarosa a las futuras generaciones (Wright, 1931; 1938). Esto se debe a que la diversidad genética de una población depende del  $N_e$  y por lo tanto, es el tamaño poblacional que es evolutivamente relevante (Wright, 1931). El  $N_e$  entonces, determina la magnitud de la deriva genética (Falconer, 1989; Caballero, 1994), es decir, indica la fuerza de los procesos estocásticos genéticos que influyen en el cómo opera la selección natural en una población, permitiendo la realización de un seguimiento temporal en una población o la comparación de los  $N_e$  entre distintas poblaciones (Hare y col., 2011).

Sin embargo, para efectos prácticos de estimar el estado de conservación de una especie o población, la UICN considera solo al  $N$ , es decir, la cantidad de individuos adultos de la población (Frankham, 1995; Palstra & Fraser 2012). De esta manera, el  $N$  y el  $N_e$  son los parámetros más importantes en el manejo y conservación de fauna silvestre porque proveen información que contribuye a la predicción del riesgo de extinción de las poblaciones (Luikart y col., 2010).

A medida que el  $N_e$  disminuye, la deriva genética lleva a una disminución de la variación genética, elevando la probabilidad de fijación de alelos deletéreos y reducción de la efectividad de selección (Frankham, 2005), lo cual reduce la adecuación biológica y limita la respuesta adaptativa de los individuos de la población (Hare y col., 2011). En una población amenazada, estos cambios genéticos, pueden conducir, ya sea de manera directa (Madsen y col., 1999) o indirecta, hacia la extinción local (Guilpin & Soulé 1986).

Dentro de este contexto, la capacidad de las poblaciones naturales para mantener la variación genética depende no sólo del número de individuos que constituyen una población, sino también de la historia de vida de la especie en estudio, donde en particular, los patrones de apareamiento son fundamentales (Bouteiller & Perrin 2000, Belmar-Lucero y col., 2012). El sistema de apareamiento de una población, determina el cómo se transmite la variación genética a las siguientes generaciones (Pérez-González y col., 2014). Así mismo, describe la razón de sexos operacional (en adelante OSR - "Operational Sex Ratio") y la cantidad de apareamientos que pueden obtener los individuos de cada sexo (Parker & Waite 1997). La OSR es una medida del grado de poligamia y se define como el número de hembras fértiles en relación a los

machos que compiten por ellas (Emlen & Oring 1977) y en algunas circunstancias, este fenómeno puede determinar la oportunidad y la fuerza de selección sexual (Emlen & Oring 1977; Kvarnemo & Ahnesj 1996; Weir y col., 2011; Klug y col., 2010; Sewart & Dutton 2014). Cuando la razón entre los sexos no es equitativa y se encuentra sesgada hacia uno de los dos sexos, es una de las principales razones por la que el  $N_e$  observado es menor al  $N$  (Frankham, 1995; Nomura, 2002; Spielman y col., 2004).

De esta manera, caracterizar el sistema de apareamiento, social o genético, de una especie, como indicador de que el  $N_e$  de una población es menor al tamaño poblacional total, es un proceso largo y costoso (en términos de energía, tiempo y económicos). Si la OSR es determinada dentro de una temporada reproductiva, puede simplificar este proceso (Nunney & Elam 1994, Hoen y col., 2012) implicado en caracterizar el sistema de apareamiento de una especie (social o genético), a modo de posibilitar su uso como indicador de un  $N_e$  inferior al  $N$ .

Si bien se creía que la poliginia era el sistema de apareamiento predominante en mamíferos (Clutton-Brock & McAuliffe 2009), a partir de tecnologías genéticas, una gran variedad de especies, previamente calificadas como poliginicas, han sido reclasificadas como poligianádricas (véase por ejemplo, *Odocoileus virginianus* (DeYoung y col., 2009), *Capreolus capreolus* (Vanpé y col., 2009), *Dasyurus maculate* (Glen y col., 2009), *Mastomys natalensis* (Kennis y col., 2008), y *Procyon lotor* (Nielsen & Nielsen 2007)). Por lo tanto, la aplicación de tecnologías genéticas en la investigación de los sistemas de apareamiento, ha demostrado que la poliginandría es la regla más que la excepción en los sistemas de apareamiento en mamíferos (McEachern y col., 2009).

Por otro lado, la estimación del  $N_e$  se puede llevar a cabo mediante diferentes

metodologías, que pueden incluir aproximaciones directas (datos ecológicos), indirectas (marcadores genéticos) o mediante ambas aproximaciones (véase Rowe & Beebee 2004; Matocq, 2004; Shmeller & Merilä 2006; Hoen y col., 2012). Debido a la dificultad de obtener la información ecológica precisa de la especie en estudio (por ejemplo, la varianza del éxito reproductivo), es que se ha incrementado el uso de metodologías genéticas en la estimación del  $N_e$  (Franham, 1995; Leberg, 2005; Luikart y col., 2010).

*Thylamys elegans* (Waterhouse, 1839) es un marsupial de hábito solitario y nocturno, que habita en áreas de matorral semi-árido mediterráneo y en zonas áridas desde la III hasta la VIII región, siendo la única especie de marsupial que habita la zona central de Chile (Muñoz-Pedreros & Yáñez 2009). Estudios previos han señalado la presencia de poliginandria con dimorfismo sexual sesgado hacia los machos y preferencia de las hembras por machos de mayor masa corporal (Bazán-León, 2015).

En términos de su estado de conservación, *Thylamys elegans* es una de las cuatro especies de marsupiales presentes en Chile y de acuerdo a los criterios de la UICN (2012), se considera como de preocupación menor (LC) (Solari & Teta 2008). Esto se justifica debido a su amplia distribución geográfica, elevados tamaños poblacionales, presencia en una serie de áreas protegidas y además, porque es poco probable que la velocidad de disminución poblacional, sea la requerida para incluirla en una categoría amenazada (Solari & Teta 2008). Sin embargo, numerosas poblaciones muestran una tendencia a decrecer y se desconoce sobre aspectos de la ecología de esta especie (Solari & Teta 2008).

De acuerdo a los antecedentes planteados y la implicancia que estos tienen sobre el  $N_e$ , esta tesis propone el primer estudio en Chile que busca estimar el  $N_e$  de una

población de *Thylamys elegans*. Además se evalúa si la OSR puede ser un indicador de que el  $N_e$  es inferior al  $N$ . Cabe destacar que la población de estudio se encuentra en Rinconada de Maipú (Región Metropolitana), zona de interés científico por su alta diversidad de especies de fauna y flora, típicas del bosque esclerófilo (CONAF, 2014), que ha sufrido numerosas intervenciones humanas, provocando consecuencias negativas indirectas sobre este ecosistema, aumentando el interés de conocer los aspectos relacionados con los parámetros demográficos  $N_e$  y  $N$ , a modo de proporcionar información relevante para la conservación local de la población de *T. elegans*.

#### Hipótesis

En especies polígamas el  $N_e$  tiende a ser menor al  $N$ , y dado que *Thylamys elegans* presenta poliginandria, se espera que el  $N_e$  sea inferior al tamaño total de la población, obteniéndose una OSR sesgada hacia uno de los dos sexos como indicador ecológico de que el  $N_e$  es menor al  $N$  observado.

#### Objetivos

##### Objetivo general

Estimar el  $N_e$  de una población del marsupial *Thylamys elegans* y evaluar si la OSR puede ser un indicador ecológico para inferir que el  $N_e$  de una población es bajo respecto al  $N$ .

##### Objetivos específicos

- Estimar las abundancias estacionales de una población de *Thylamys elegans*.

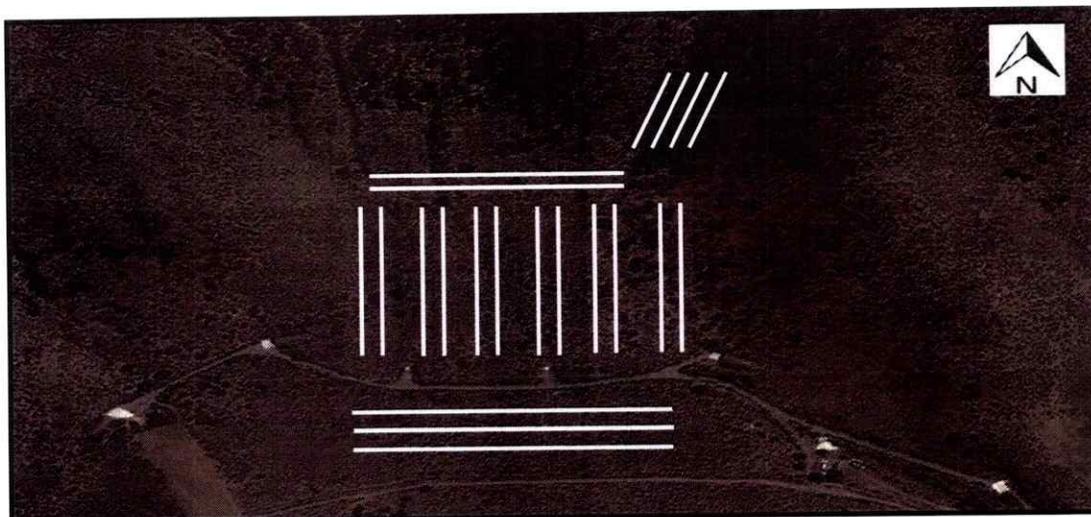
- Estimar el  $N_e$  de *T. elegans*. Analizar la relación  $N_e/N$  anual y evaluar si esta relación se mantiene entre los años 2012 y 2013.
- Analizar la relación  $N_e/N$  estimada, considerando el patrón reproductivo de *T. elegans* en Rinconada de Maipú.

## MÉTODOS

### Monitoreo y área de estudio

Entre septiembre del 2011 y enero del 2014, se monitoreó estacionalmente, una población de *Thylamys elegans* en la Estación Experimental Agronómica Germán Greve Silva de la Universidad de Chile, ubicada en Rinconada de Maipú (0324850 E y 6293003 S, 520 m.s.n.m.), Región Metropolitana de Santiago. En el sector predomina la vegetación de tipo matorral esclerófilo (Luebert & Pliscoff 2006) y se encuentra en la ladera este de la Cordillera de los Andes, en el valle central de Chile. Los monitoreos se realizaron aproximadamente cada 45 días, procurando no coincidir con las fases de luna llena (véase Vásquez, 1996), cada evaluación tuvo una duración de 5 noches consecutivas (Woodman y col., 1995).

Se construyeron 16 transectos paralelos en dirección norte-sur, separados cada 20-30 m aproximadamente. Además se construyeron otros cinco transectos paralelos con dirección este-oeste, de los cuales tres se ubicaron al sur de los 16 transectos previamente mencionados y dos al norte (Figura 1).



**Figura 1.** Transectos construidos en la Estación Experimental Germán Greve Silva – Rinconada de Maipú.

Cada uno de los transectos estuvo conformado por 20 estaciones de captura distanciadas cada 20 m. La disposición espacial de este grupo de trampas asemejaba una grilla, con un total de 420 estaciones de captura y abarcó un área aproximada de 152.000 m<sup>2</sup> (15,2 ha). Adicionalmente, 50 m al noreste del conjunto de transectos recién mencionados, en una pequeña quebrada dominada por especies arbóreas, se construyeron 4 transectos paralelos y separados cada 15 m. Cada uno de estos transectos constaba de 10 trampas separadas cada 10 m, abarcando un área aproximada de 5.000 m<sup>2</sup> (véase Figura 1, área total abarcada de 15,7 ha). Todos los transectos fueron ubicados en aquellas zonas donde existía mayor probabilidad de capturar a la especie, es decir, zonas de matorral denso y de alta humedad (Simonetti, 1989). En total, se colocaron 460 estaciones de captura, instalándose sobre el suelo de cada una de éstas, dentro de un tubo de PVC (30 x 16,8 cm, largo x diámetro) para evitar la depredación natural, una versión modificada de trampa plegable para captura viva tipo Sherman (22 x 9 x 8 cm, largo x ancho x alto). Las trampas fueron revisadas y cerradas al amanecer de cada día de colecta, y activadas durante la tarde con una mezcla

(aproximadamente 10 g) de avena, atún y plátano. Los individuos capturados fueron medidos, pesados y marcados con un crotal metálico numerado, siguiendo los protocolos convencionales descritos en Díaz y col., (1998). Además, de cada individuo, se obtuvo una pequeña biopsia de tejido proveniente de la oreja, la cual se fijó en alcohol al 70% para los análisis genéticos, y finalmente, fueron liberados en el mismo lugar de captura.

#### Abundancia y densidad poblacional

La abundancia poblacional de *Thylamys elegans* a lo largo de las estaciones del año se estimó con el método de Captura-Marcaje-Recaptura (Nichols & Pollock 1983; Hopkins & Kennedy 2004). Los análisis fueron realizados en el programa MARK, versión 7.2 (White & Burnham, 1999; Cooch & White 2006), llevando a cabo el modelo de máxima verosimilitud de poblaciones cerradas (Otis y col., 1978). La evaluación de la robustez de los modelos resultantes se realizó en base al valor del *Akaike's Information Criterion* (AIC), de manera que la elección del mejor modelo presentase la puntuación más baja de AIC, ya que este sería el modelo menos sesgado, equilibrado y preciso (Burnham & Anderson 2002). De esta manera, la abundancia estimada a partir del censo, será considerada como el N de esta población, debido a que la abundancia poblacional es el valor central ampliamente aceptado a partir del cual se realiza la evaluación del estado de conservación de las especies (UICN, 2012), siendo la información disponible predominante en los esfuerzos de conservación.

La medición de la densidad de individuos se realizó a partir de la división de la abundancia estimada anteriormente y el área de estudio (Quirici y col., 2010).

### Tamaño poblacional efectivo ( $N_e$ )

Previo a la estimación del  $N_e$  se tuvo que aislar el ADN, realizar la genotipificación de microsatélites y posteriormente, calcular la diversidad genética de la población. A continuación se describe la metodología para cada uno de los pasos mencionados.

### Aislamiento de ADN y genotipificación de microsatélites

La extracción del ADN de las muestras de tejido de oreja fue realizada con el método de extracción de sales descrito por Aljanabi y Martinez (1997). Debido a la ausencia de microsatélites descritos para la especie, se realizó una secuenciación masiva del genoma en un 454 Titanium FLX obteniéndose 40Mbp de un largo promedio de 300bp. La secuenciación fue realizada en el Centro Genómico Chileno (OMICS-Solutions, Chile). Se utilizó el programa Primer 3 (Untergrasser y col., 2012) para la búsqueda de repeticiones di y tetra, obteniéndose 350 posibles microsatélites con sus respectivos partidores. Se utilizó el criterio de seleccionar las di y tetra repeticiones que presentaron al menos 10 repeticiones, elemento que permite asegurar la presencia de polimorfismo entre poblaciones. Se sintetizaron 30 pares de partidores, mediante electroforesis en gel de agarosa se determinó aquellos más polimórficos. Los partidores inversos ("reverse") de cada par de microsatélites fueron marcados con fluorescencia para evaluar posteriormente, el polimorfismo en un secuenciador automático.

La reacción en cadena de la polimeraza (PCR) consistió en amplificar mezclas de 12  $\mu$ L que contienen 100 ng de ADN, 0,25  $\mu$ M de cada partidor, 100  $\mu$ M de cada dNTP, 2 mM de  $MgCl_2$ , 1,25  $\mu$ L\*10 de tampón de PCR, 2  $\mu$ L de BSA y 0,5 U de ta

polimerasa platinum (Invitrogen). Las condiciones del PCR en el termociclador consistieron de un paso inicial de desnaturalización de 3 min a 95°C, seguido por 35 ciclos que consistieron en 30 s a 95°C, 30 s de temperatura de anillamiento específica, 1 min 30 s a 72°C y finalmente, un paso de 72°C por 5 min de elongación. Las temperaturas óptimas de anillamiento estuvieron entre 50°C y 55°C. Los productos PCR obtenidos fueron genotipificados en el servicio de secuenciación de la Pontificia Universidad Católica de Chile, usando LIZ 500 como estándar (Applied Biosystems).

#### Diversidad genética

Se calcularon las desviaciones esperadas de Hardy-Weinberg (HWE) y el déficit de heterocigotos (Fis) usando el programa GENETIX (Belkhir y col., 1996).

#### Estimación del Ne

Los análisis para la estimación del Ne fueron realizados en el programa NeEstimator (Do y col., 2014). Para ello, se utilizaron los *loci* de microsatélites genotipificados y se consideró el método de exceso de heterocigotos (Pudovkin y col., 1996). Este método mide la proporción observada de heterocigotos, permitiendo estimar la cantidad de individuos representados genéticamente en la progenie, basado en la cantidad de genotipos que contiene la muestra, de manera que el cálculo del Ne se realiza a partir de la siguiente ecuación:

$$Ne = \frac{1}{(2D)} + \frac{1}{2(D + 1)}$$

, donde *D* mide el exceso o déficit de heterocigotos promedio en la muestra (Pudovkin y col., 1996), conocido como índice de Selander (1970) y se estima como:

$$D = \frac{(H_o - H_e)}{H_e}$$

, donde  $H_o$  y  $H_e$  corresponde a la proporción de heterocigotos observada y esperada, respectivamente.

### Razón Ne/N

Para comprender la relación entre el  $N_e$  y el  $N$  en el año 2012 y 2013, se evaluó la OSR dentro de la temporada reproductiva, se realizaron análisis genéticos de múltiple paternidad y se estimó el éxito reproductivo de los machos y las hembras de la población, como se describe a continuación.

### Razón de sexos operacional (OSR)

La OSR se calculó mediante la razón de machos maduros y hembras receptivas capturados en temporada reproductiva (Emlen, 1976). Todas las hembras recapturadas en temporada post-reproductiva que habían sido capturadas en temporada reproductiva, presentaron tejido lácteo, lo cual es evidencia de lactancia (Bazán-León, 2015), por lo que la OSR estimada en temporada reproductiva reflejaría la OSR real de esta población, dado que todas las hembras se habrían apareado. Para determinar si la OSR anual estaba sesgada significativamente hacia los machos, se realizó una prueba binomial de una cola.

### Múltiple de paternidad

Para determinar la existencia de múltiple paternidad en *T. elegans* se realizó un análisis de asignación de paternidad de las crías capturadas e identificadas durante una

temporada de reclutamiento en particular con los individuos adultos capturados durante la temporada reproductiva previa (e.g., Yue y Hong 2014). Las crías asignadas a una madre en particular durante la misma temporada reproductiva, fueron consideradas como parte de la misma camada. Para ello se utilizó el programa PASOS 1.0 ("Parental Allocation of Singles in Open Systems", Duchesne y col., 2005), el cual permite realizar análisis de similitud alélica de organismos considerados como "padres" e individuos considerados como "progenie". A través de un algoritmo basado en máximo de verosimilitud se asigna padres e hijos en una situación donde es posible no conocer a la totalidad de los padres de la población.

A partir de los genotipos de padres e hijos obtenidos, se estimó la proporción de camadas con múltiple paternidad y camadas con un solo padre. Además, se utilizó la fórmula  $n(n-1)/2$  para calcular el total de parentescos de las crías (hermanos completos y medios hermanos, "sibs") y hermanos completos ("full sibs") en una camada en particular (véase Burland y col. 2001). La divergencia entre el total de "sibs" y "full sibs" resultó en el total de medios hermanos ("half sibs") (Burland y col., 2001).

#### Éxito reproductivo

La estimación del éxito reproductivo de los individuos se realiza a partir de un estimador denominado "oportunidad para la selección"  $I$  (Arnold & Wade 1984), que se calcula mediante la varianza estandarizada del éxito reproductivo (Arnold & Wade 1984). Generalmente,  $I$  es usada para comparar el grado de poliginia entre las especies a través de la medición directa del éxito reproductivo de los machos ( $I_m$ ) y hembras ( $I_f$ ), evaluado como la varianza estandarizada del número promedio de crías por individuo (valores

obtenidos a partir de los análisis de asignación de paternidad), dividido por la media poblacional (Arnold & Wade 1984).

## RESULTADOS

### Abundancia y densidad poblacional

La abundancia observada durante la temporada reproductiva de *T. elegans* el año 2012 fue de  $29,4 \pm 17,5$  (media  $\pm$  EE) y para el 2013 fue de  $26 \pm 1,9$  individuos (Tabla 1) con un 95% de intervalo de confianza de [19,3-116,7] y [26,1-37,6], respectivamente. Dada la ausencia de historias de captura en primavera temprana, la estimación de la abundancia y densidad de individuos adultos se realizó únicamente con las abundancias estimadas durante invierno (Tabla 1).

**Tabla 1.** Abundancias y densidades poblacionales de *T. elegans* estimadas durante los muestreos estacionales en los años 2012 y 2013.

Estación	Abundancia (N)	Error Estándar	95% Intervalo de Confianza	Densidad (Ind/ha)
Verano 2012	8,3	$\pm 1,7$	[8-20,4]	0,5
Otoño 2012	7	$\pm 1,6$ E-4	[7-7,1]	0,4
<b>Invierno 2012</b>	<b>29,4</b>	<b><math>\pm 17,5</math></b>	<b>[19,3-116,7]</b>	<b>1,9</b>
Verano 2013	22	$\pm 1,2$ E-5	[22-22,9]	1,4
Otoño 2013	11,8	$\pm 6,1$	[9-46,4]	0,8
<b>Invierno 2013</b>	<b>26,9</b>	<b><math>\pm 1,9</math></b>	<b>[26,1-37,6]</b>	<b>1,7</b>

### Aislamiento de ADN, genotipificación de microsatélites y diversidad genética

Se determinó que 5 de los 30 pares partidores eran polimórficos y con amplificaciones fiables. Los análisis muestran que dos partidores no se encuentran en equilibrio de Hardy-Weingberg, mostrando valores significativos de déficit de heterocigotos (Tabla 2).

**Tabla 2.** Secuencias de los partidores y sus características para 5 loci de microsatélites.

Locus	Secuencia del pimer (5'-3')	Repet.	Tm (°C)	N	Ho/He	Fis	NA
Thyl7	F: TACCTATGTATCTGGTACTGG R: TACCTATGTATCTGGTACTGG	(GT) <sub>7</sub>	50	188	0,755/ 0,488	-0,545*	4
Thyl15	F: AATATATGATCATAGTGTGGG R: AATATATGATCATAGTGTGGG	(TG) <sub>8</sub>	55	164	0,982/ 0,755	-0,298*	7
Thyl21	F: TGTGTTTAGAAATCCTCTCTA R: TGTGTTTAGAAATCCTCTCTA	(CA) <sub>14</sub>	55	134	0,716/ 0,752	0,058	6
Thyl23	F: TACATCACAGGTTACATAGGT R: TACATCACAGGTTACATAGGT	(TAA) <sub>10</sub>	55	90	0,144/ 0,135	-0,061	4
Thyl27	F: TCAGTAAATGAGCTAGAGAAG R: TCAGTAAATGAGCTAGAGAAG	(TTTG) <sub>7</sub>	55	182	0,423/ 0,461	0,086	3
POBLACIÓN	-	-	-	-	0,604/ 0,519	-0,159*	24

*Tm* temperatura de anillamiento, *N* número de individuos analizados, *NA* número de alelos; \**p*<0.01 para desviaciones significativas del HWE (*Ho/He*), evaluado después de 3000 permutaciones.

#### Tamaño poblacional efectivo (Ne), razón Ne/N

Los estimación del Ne se realizó con 4 de los 5 microsatélites obtenidos, mostrando que para los años 2012 y 2013 los Ne fueron 6,8 [2,1; ∞] y 13,9 [2,9; ∞] respectivamente. Esto, junto a los resultados del N muestran que la razón Ne/N para el año 2012 fue 0,231 y para el 2013 fue 0,517 (Tabla 3).

**Tabla 3.** Ne y razón Ne/N estimadas durante la temporada reproductiva de *T. elegans* durante los años 2012 y 2013. Nótese que los valores de N corresponden a la abundancia poblacional estimada a partir del censo.

Año	Ne	Ne/N
2012	6,8 [2,1;∞]	0,231
2013	13,9 [2,1;∞]	0,517

### OSR

Los resultados de la prueba binomial de la OSR muestran un sesgo significativo hacia los machos durante la temporada reproductiva del año 2012 (Tabla 4).

**Tabla 4.** OSR estimada a partir de las capturas de machos (m) y hembras (f) durante los años 2012 y 2013 en Rinconada de Maipú. Se muestran los resultados de la prueba binomial para la OSR, destacándose la probabilidad significativa para el año 2012.

Temporada reproductiva	Capturas		Prueba binomial OSR		
	m	F	OSR	Z	P
2012	26	10	2,6	2,5	0,006
2013	20	19	1,1	0	0,5

### Asignación de paternidad

Entre los periodos 2011 y 2012 se capturaron 10 individuos adultos (temporada reproductiva 2011) y 35 juveniles (temporada reclutamiento 2011-2012), mientras que entre el 2012 y 2013 se capturaron 35 adultos (temporada reproductiva 2012) y 77 juveniles (temporada reclutamiento 2012-2013) (Tabla 5). La media de crías por camada/hembra en ambos periodos reproductivos fue  $5,3 \pm 0,9$  EE (n=18), encontrándose camadas entre 1 y 15 crías.

**Tabla 5.** Número de individuos capturados en los periodos reproductivos y número de crías con madre y padre identificados, con al menos uno y sin padres identificados.

Periodo	Total machos	Total hembras	Total crías	Crías con dos padres identificados	Crías con un padre identificado	Crías sin padres identificados
2011-2012	4	6	35	15	11	9
2012-2013	22	13	77	71	5	1
Ambos periodos	26	19	112	86	16	10

Considerando ambos periodos reproductivos, los análisis de asignación de paternidad mostraron un total de 18 camadas, en las cuales se observó que un 83,33% exhibía múltiple paternidad (Tabla 6).

**Tabla 6.** Resultados del análisis de proporción de camadas con múltiple paternidad en los dos periodos reproductivos.

Periodo	Total camadas	Camadas con múltiple paternidad	Camadas con múltiple paternidad (%)	Camadas sin múltiple paternidad	Camadas sin múltiple paternidad (%)
2011-2012	6	4	66,67	2	33,33
2012-2013	12	11	91,67	1	8,33
Ambos periodos	18	15	83,33	3	16,67

Además, la media del número mínimo de padres en una camada fue de  $1,8 \pm 0,3$  EE el año 2012,  $4,2 \pm 0,6$  EE el 2013 y  $3,4 \pm 1,1$  EE considerando ambos periodos. En ese sentido, 14 camadas mostraron tener entre 3 y 4 padres machos por camada, mientras que una sola camada mostró tener 8 padres machos. De las 18 camadas en total, solo 3 camadas tuvieron un solo padre.

#### Éxito reproductivo

En ambos periodos reproductivos evaluados, la oportunidad para la selección sexual del éxito reproductivo en los machos fue mayor que en las hembras (Tabla 7), donde la razón *ImIf* mostró diferencias en el éxito reproductivo en ambos periodos (2011-2012=1,84; 2012-2013=1,74; ambos periodos=1,68).



**Tabla 7.** Resultado de las medidas calculadas del éxito reproductivo de los individuos en los periodos reproductivos 2011-2012 y 2012-2013. Se muestra el número de individuos (N), media ( $\bar{X}$ ), varianza ( $S^2$ ), desviación estándar (DE), coeficiente de variación (CV) y la oportunidad para la selección ( $I$ ).

Periodo	2011-2012		2012-2013		Ambos periodos	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
Éxito reproductivo						
N	4	6	22	13	26	19
$\bar{X}$	4,5	3,83	3,36	5,62	3,54	5,05
$S^2$	29,67	11,77	12,05	19,26	13,86	16,83
DE	5,45	3,43	3,47	4,39	3,72	4,1
CV	121,04	89,48	103,21	78,15	105,21	81,2
$I$	1,49	0,81	1,22	0,7	1,26	0,75

## DISCUSIÓN

Las menores abundancias de *T. elegans* se observan en otoño, cuando las temperaturas y la disponibilidad de recursos disminuyen, llevando a que los individuos realicen conductas de sopor (Sabat y col., 1995). Durante invierno, cuando la población se encuentra en plena temporada reproductiva, se observa la mayor abundancia. Además, previamente a la elaboración de este estudio, se observó que los individuos de la población, incrementaron su peso y tamaño desde verano a invierno, coincidiendo con la identificación etaria de los individuos juveniles, observados solo en verano, y adultos, solo en invierno y primavera (véase Bazán-León, 2015). Lo anterior, permite inferir la presencia de un patrón etario-estacional que ha sido observado en otras poblaciones de la misma especie (Lima y col., 2001), donde la variación en la probabilidad de captura refleja los cambios en la densidad de depredadores, variables ambientales, conducta y disponibilidad y/o calidad de los recursos. Estos dos últimos factores pueden mostrar que la población de *T. elegans* en Rinconada de Maipú podría seguir el mismo patrón, ya que durante el invierno la abundancia poblacional observada es mayor que en las demás estaciones, lo que se podría relacionar a que durante este periodo los individuos alcanzan la madurez sexual y en términos conductuales, se encontrarían más activos, dado que se encuentran en búsqueda de pareja con fines reproductivos. Además, durante este periodo, hay una alta disponibilidad de larvas de insectos que les proveen energía para suplir los esfuerzos implicados en la reproducción (Lima y col., 2001). La abundancia observada disminuye de invierno a verano y de verano a otoño, lo que se podría explicar por la disminución de la actividad reproductiva y el reclutamiento de nuevos individuos (Lima y col., 2001). Por otra parte, en verano es cuando hay mayor

disponibilidad de insectos adultos, los cuales son una importante fuente de proteínas (Gullan & Cranston 1992) para el desarrollo de la población juvenil (Lima y col., 2001).

Si bien el  $N$  presentó leves variaciones de un año a otro, se observó que el  $N_e$  aumentó al doble desde el 2012 al 2013. Esto se podría deber a que las fluctuaciones del  $N$  repercuten en el  $N_e$  (Soulé, 1976; Frankham, 1996), lo que sugiere que en una población que presente fluctuaciones poblacionales estacionales e interanuales, como en este caso, leves variaciones en el  $N$  se verían reflejadas en el  $N_e$ . No obstante, no sería posible descartar que al haber estimado el  $N_e$  a partir de 4 microsatélites solamente, los resultados se podrían encontrar sesgados. Esto sugiere que para futuros análisis en esta población, sería positivo que se incremente el número de marcadores.

En la naturaleza, la relación entre el  $N_e$  y  $N$  varía ampliamente tanto en vertebrados como en invertebrados (Waples y col., 2013). En promedio, la razón  $N_e/N$  es 0,2, siendo inferior a 1 en la gran mayoría de las especies que se tiene registro (Palstra & Fraser 2012). En cambio, en anfibios y en especies marinas, el  $N_e/N$  ha sido descrito a menudo, inferior a 0,1 (véase Rowe & Beebee 2004, Jehle y col., 2005, Schmeller & Merilä 2007, Palstra & Ruzzante 2008, Ficetola y col., 2010, Hare y col., 2011), incluso en el orden de  $10^{-3}$ - $10^{-5}$  en especies amenazadas (Hare y col., 2011). Por lo tanto, la relación  $N_e/N$  encontrada el 2013 en *T. elegans*, superaría al promedio encontrado en la naturaleza, indicando que cerca del 50% de los individuos de esta población estarían representados genéticamente en la siguiente generación.

Este resultado, se puede explicar a través de los patrones de apareamiento como indicadores de una OSR sesgada hacia los machos y a partir de los análisis de múltiple paternidad, que evidencian la presencia de una variación en el éxito reproductivo de los

individuos (Frankham y col., 2002, Palstra & Ruzzante 2008, Lee y col., 2011, Belmar-lucero y col., 2012).

De acuerdo a los patrones reproductivos, cuando la OSR se encuentra sesgada hacia los machos posibilita la presencia de competencia intra-sexual indicando que la fuerza de la selección sexual sería mayor sobre los machos (Emlen & Oring 1977), lo cual se reflejaría en la existencia de dimorfismo sexual y múltiple paternidad (Stewart & Dutton 2014). De esta manera la OSR explicaría cómo las dinámicas demográficas se ven reflejadas en el sistema de apareamiento de una población (Blyton y col., 2012). En este estudio, la OSR estuvo sesgada significativamente hacia los machos sólo el año 2012, donde la relación  $N_e/N$  fue inferior al año 2013, cuando la relación  $N_e/N$ , tal como se mencionó anteriormente, fue mayor al promedio observado en la naturaleza. Estos resultados podrían sugerir que la OSR sesgada hacia uno de los dos sexos podría ser usada como un indicador de  $N_e$  inferior al  $N$ . Sin embargo, para el cumplimiento de la hipótesis de este trabajo, sería necesario evaluar si lo observado en esta población durante los dos años de monitoreo, se cumpliría al realizar un seguimiento a largo plazo. Aun así, de acuerdo a Blyton y col. (2012), tomando en cuenta las dinámicas demográficas que han sido descritas en otras poblaciones de *T. elegans* (por ejemplo, Lima y col., 2001), las variaciones intra e inter anuales en las abundancias de esta especie, podrían explicar los resultados de la OSR durante dos años de estudio, como también la diferencia de la razón  $N_e/N$  entre ambos años.

La competencia entre machos para acceder a las hembras, por lo general lleva a un aumento en la varianza del éxito reproductivo y de apareamiento (Emlen & Oring 1977; Shuster, 2009), lo que generalmente beneficia a los de mayor tamaño corporal

sobre aquellos de menor tamaño (Wauters y col., 1990; Selonen y col., 2013). Esto ha sido planteado en otros estudios en marsupiales (Holleley y col., 2006, Kraaijeveld-Smit y col., 2003), como también en *T. elegans* (Bazán-León, 2015).

En este sentido, los valores de la oportunidad para la selección ( $I$ ) en *T. elegans* son similares a los encontrados en un estudio realizado en primates ( $I_m = 1,29$ ;  $I_f = 0,26$  e  $I_m/I_f = 4,99$ ; véase Dubuc y col., 2014), donde se consideró que  $I$  era baja para valores inferiores a 1, moderada para valores entre 1 a 3 y alta cuando  $I > 3$ . Altos valores de  $I_m$  o  $I_f$  se encuentran en especies con alto grado de poliginia o poliandria respectivamente, donde solo una fracción de los machos (o hembras, en poliandria) contribuye al pool génico de la siguiente generación (Dubuc y col., 2014). Valores de  $I_m = 0$  se observan en especies monogámicas, donde hay ausencia de competencia intra o intersexual. Tomando en cuenta las observaciones de Dubuc y col. (2014), los valores de  $I$  en *T. elegans* serían intermedios y se ajustarían a un sistema de apareamiento promiscuo o poliginándrico, donde la  $I_f$  es menor a la  $I_m$  (véase Clutton-Brock, 1988; Venpé y col., 2008), tal como se observa en poliginia o poliandria pero con valores moderados de  $I$ . Estas observaciones, justificarían los altos valores de la razón  $N_e/N$  observada, sugiriendo a su vez que el  $N_e$  observado en *T. elegans* podría ser inferior en presencia de un sistema de apareamiento poliginico, dado que en presencia de poliginandria la cantidad de individuos que contribuye al pool génico de la siguiente generación es mayor que en un sistema poliginico (Dubuc y col., 2014).

Además, en especies poliginicas donde las hembras producen múltiples crías, el  $N_e$  tiende a ser relativamente bajo respecto al tamaño total de la población, debido a una alta varianza del éxito reproductivo en los machos (Pearse & Anderson 2009). La

poliginandria o promiscuidad, compensa la reducción del  $N_e$ , gracias a la presencia de múltiple paternidad, ya que este fenómeno puede reducir la varianza del éxito reproductivo de los machos, aumentando el  $N_e$  y contribuyendo a la mantención de diversidad genética (Pearse & Anderson 2009). En *T. elegans* se evidenció la presencia de un 83,3% de múltiple paternidad en las camadas. Estudios previos han propuesto que este fenómeno podría ser un aspecto importante en la ecología de los marsupiales (Taylor y col., 2000; Holleley y col., 2006; Beasley y col., 2009), donde el múltiple apareamiento de la hembra, sería una estrategia que minimizaría el infanticidio por parte de los machos (véase Wolff & Macdonald 2004, Bergeron y col., 2012), incrementando el éxito reproductivo de las hembras, a partir de beneficios genéticos como el aumento de la diversidad genética dentro y entre las camadas (Kraaijeveld-Smit y col., 2003), que podrían influir en la mantención de la diversidad genética de la población.

Esto indicaría que la promiscuidad o poliginandria observada en *T. elegans* sería beneficiosa en la mantención de la diversidad genética de la población, lo que apoya a las observaciones mencionadas anteriormente respecto al elevado valor de la razón  $N_e/N$  encontrado.

Cabe destacar, que la razón  $l_m/l_f$  fue mayor el 2012 que el 2013. A su vez, el porcentaje de múltiple paternidad entre las camadas, registrados el año 2012, fue inferior al registrado el 2013, lo cual permitiría sugerir que durante el 2012, cuando la razón de sexos estaba sesgada hacia los machos, hubo una mayor competencia entre los machos y a consecuencia de ello, una mayor varianza del éxito reproductivo entre éstos, lo que se tradujo en una razón  $N_e/N$  inferior que aquella observada el 2013.

Finalmente, además de la OSR y la varianza del éxito reproductivo de machos y hembras, existen otras características ecológicas y demográficas que pueden tener consecuencias en los sistemas de apareamiento (Lott, 1991), que a su vez, repercuten sobre el número de individuos adultos reproductivos, el éxito reproductivo y en consecuencia, el  $N_e$  (Anthony & Blumstein 2000; Ficetola y col., 2010). Estas características se explican a través de la plasticidad en la estrategia conductual de los individuos, resultante de la interacción específica entre estos y su hábitat (Levins, 1968; Kokko & Rankin 2006, Blyton y col., 2012), provocando que la adecuación biológica varíe y en consecuencia, el sistema de apareamiento varíe intra-especie (véase Lot, 1991; Palstra & Ruzzante 2008), dificultando predecir la relación entre el  $N_e$  y  $N$  para una determinada especie y/o población (Anthony & Blumstein 2000).

## CONCLUSIONES

Las abundancias estacionales intra e inter anuales observadas siguen una dinámica descrita anteriormente en la literatura, que coincide con un patrón etario-estacional (Lima y col., 2001).

Se encontró que el  $N_e$  estimado para la población de *T. elegans* en Rinconada de Maipú aumentó al doble de un año a otro. Esto podría ser producto de las variaciones intra e inter anuales del  $N$ .

La elevada relación  $N_e/N$  encontrada en uno de los años de estudio, se explicaría principalmente a partir del sistema reproductivo y la multiplepaternidad de *T. elegans*.

La OSR puede ser usada como un indicador de  $N_e$  inferior al  $N$ , dado que estuvo sesgada hacia los machos solamente el año 2012, cuando la relación  $N_e/N$  se encuentra dentro del promedio de lo observado en la naturaleza.

Finalmente, los elevados valores de la relación  $N_e/N$  registrados, indicarían que esta población no presentaría problemas de conservación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aljanabi, S.M. y Martinez, I. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res.*, 25: 4692-4693.
- Andersson, M.B. 1994. *Sexual selection*. Princeton University Press.
- Anthony, L.L. y Blumstein, D.T. 2000. Integrating behaviour into wildlife conservation: the multiple ways that behaviour can reduce Ne. *Biological Conservation*, 95(3): 303-315.
- Arnold, S.J. y Wade, M.J. 1984. On the measurement of natural selection: applications. *Evolution*, 38: 720-734.
- Bazán-León, E. 2015. Dimorfismo sexual y conducta reproductiva en el marsupial chileno *Thylamys elegans*, una aproximación ecológica y evolutiva. Tesis Doctoral. Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Beasley, J.C., Beatty, W.S., Olson, Z.H. y Rhodes, O.E. 2009. A genetic analysis of the Virginia opossum mating system: evidence of multiple paternity in a highly fragmented landscape. *J. Heredity*, 101: 368-373.
- Belmar-Lucero, S., Wood, J.L., Scott, S., Harbicht, A.B., Hutchings, J.A. y Fraser, D.J. 2012. Concurrent habitat and life history influences on effective/census population size ratios in stream-dwelling trout. *Ecology and evolution*, 2(3): 562-573.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. y Bonhomme, F. 1996. GENETIX 4.05, Windows software for population genetics. Montpellier, France: Laboratoire Génome, populations, interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II.

- Bergeron, P., Montiglio, P.O., Réale, D., Humphries, M.M. y Garant, D. 2012. Bateman gradients in a promiscuous mating system. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 66(8): 1125-1130.
- Blyton, M.D., Banks, S.C., Peakall, R. y Lindenmayer, D.B. 2012. Using probability modelling and genetic parentage assignment to test the role of local mate availability in mating system variation. *Molecular ecology*, 21(3): 572-586.
- Bouteiller, C. y Perrin, N. 2000. Individual reproductive success and effective population size in the greater white-toothed shrew *Crocidura russula*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 267(1444): 701-705.
- Burland, T.M., Barratt, E.M., Nichols, R.A., y Racey, P.A. 2001. Mating patterns, relatedness and the basis of natal philopatry in the brown long-eared bat, *Plecotus auritus*. *Mol. Ecol.*, 10:1309-1321.
- Burnham, K.P. y Anderson, D.R. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer Science & Business Media. Springer, New York, New York, USA.
- Caballero, A. 1994. Developments in the prediction of effective population size. *Heredity*, 73(6): 657-679.
- Clinchy, M., Taylor, A.C., Zanette, L.Y., Krebs, C.J. y Jarman, P.J. 2004. Body size, age and paternity in common brushtail possums (*Trichosurus vulpecula*). *Molecular Ecology*, 13(1): 195-202.
- Clutton-Brock, T.H. 1988. Reproductive success: studies of individual variation in contrasting breeding systems. University of Chicago Press. Chicago.

Clutton-Brock, T.H. y McAuliffe, K. 2009. Female mate choice in mammals. *Quart. Rev. Biol.*, 84: 3-27.

Corporación Nacional Forestal (CONAFF). 2014. Informe fiscalización forestal estación experimental agronómica German Greve, Región Metropolitana, ORD. N°: 134/2014.

Cooch, E. y White, G. 2006. Program MARK: a gentle introduction. 7th ed., <http://www.phidot.org/software/mark/index.html>.

DeYoung, R.W., Demarais, S., Gee, K.L., Honeycutt, R.L., Hellickson, M.W. y Gonzalez, R.A. 2009. Molecular evaluation of the white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) mating system. *J. Mammal.*, 90(4): 946-953.

Díaz M., Flores, D. y Barquez, R. 1998. Instrucciones para la preparación y conservación de mamíferos. Programa de Investigaciones de Biodiversidad Argentina (PIDBA). Publicaciones especiales N°1, Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán y CONICIT. Tucumán, Argentina.

Do, C., Waples, R.S., Peel, D., Macbeth, G.M., Tillett, B.J. y Ovenden, J.R. (2014). NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size ( $N_e$ ) from genetic data. *Mol. Ecol. Res.*, 14(1): 209-214.

Dubuc, C., Ruiz-Lambides, A. y Widdig, A. 2014. Variance in male lifetime reproductive success and estimation of the degree of polygyny in a primate. *Behav. Ecol.*, 25(4): 878-889.

Duchesne, P., Castric, T. y Bernatchez, L. 2005. PASOS (Parental allocation of singles in open systems): a computer program for individual parental allocation with missing parents. *Mol. Ecol. Notes*, 5: 701-704.

Eberle, M. y Kappeler, P.M. 2004. Sex in the dark: determinants and consequences of mixed male mating tactics in *Microcebus murinus*, a small solitary nocturnal primate. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 57(1): 77-90.

Emlen, S.T. 1976. Lek organization and mating strategies in the bullfrog. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 283: 283-313.

Emlen, S.T. y Oring, L.W. 1977. Ecology sexual selection and the evolution of mating systems. *Science* 197: 215-223.

Falconer, D.S. 1989. Introduction to quantitative genetics. 3rd edition. Longman, Harlow, England

Ficetola, G.F., Padoa-Schioppa, E., Wang, J. y Garner, T.W. 2010. Polygyny, census and effective population size in the threatened frog, *Rana latastei*. *Anim. Conserv.*, 13(s1), 82-89.

Fisher, R.A. 1930. The genetical theory of natural selection: a complete variorum edition. Oxford University Press.

Foster, W. y Taggart, D. 2008. Generation of sex ratio biases in the red-tailed phascogale (*Phascogale calura*). *Reproduction, Fer. Devel.*, 20: 275-280.

Frankham, R. 1995. Effective population size adult population size ratios in wildlife: a review. *Genet. Res.*, 66:95-107.

Frankham, R., Briscoe, D.A. y Ballou, J.D. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press.

Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. *Biol. Conserv.* 126(2):131-140.

Guilpin, M.E. y Soule M.E. 1986. Minimum viable populations: processes of species extinctions. *En: M. E., Soule (ed). Consekation biology-the science of scarcity and diversity.* pp 19-34. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts

Glen, A.S., Cardoso, M.J., Dickman, C.R. y Firestone, K.B. 2009. Who's your daddy? Paternity testing reveals promiscuity and multiple paternity in the carnivorous marsupial *Dasyurus maculatus* (Marsupialia: Dasyuridae). *Biol. J. Linn. Soc.*, 96(1): 1-7.

Gullan, P.J. y Cranston, P.S. 2009. *The insects: an outline of entomology.* John Wiley & Sons.

Hare, M.P., Nunney, L., Schwartz, M.K., Ruzzante, D.E., Burford, M., Waples, R.S y Palstra, F. 2011. Understanding and estimating effective population size for practical application in marine species management. *Conserv. Biol.*, 25(3): 438-449.

Hoën M., Gruber B., Sarre S.D., Lange R. y Henle K. 2012. Can Genetic Estimators Provide Robust Estimates of the Effective Number of Breeders in Small Populations?. *PLoS ONE*, 7: 1-10.

Holleley, C.E., Dickman, C.R., Crowther, M.S. y Oldroyd, B.P. 2006. Size breeds success: multiple paternity, multivariate selection and male semelparity in a small marsupial, *Antechinus stuartii*. *Mol. Ecol.*, 15(11): 3439-3448.

Jehle, R., Wilson, G.A., Arntzen, J.W. y Burke, T. 2005. Contemporary gene flow and the spatio-temporal genetic structure of subdivided newt populations (*Triturus cristatus*, *T. marmoratus*). *J. Evol. Biol.*, 18(3): 619-628.

- Jones, A.G., Arguello, J.R. y Arnold, S.J. 2004. Molecular parentage analysis in experimental newt populations: the response of mating system measures to variation in the operational sex ratio. *Am. Nat.*, 164(4): 444-456.
- Kalinowski, S.T. y Waples, R.S. 2002. Relationship of effective to census size in fluctuating populations. *Conserv. Biol.* 16:129-136.
- Kennis, J., Sluydts, V., Leirs, H. y Van Hooft, W.F. 2008. Polyandry and polygyny in an African rodent pest species, *Mastomys natalensis*. *Mammalia*, 72(3): 150-160.
- Klug H, Heuschele J., Jennions M. y Kokko H. 2010. The mismeasurement of sexual selection. *J. Evol. Biol.*, 23: 447-462.
- Kokko, H. y Rankin, D.J. 2006. Lonely hearts or sex in the city? Density-dependent effects in mating systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biol. Scien.*, 361(1466): 319-334.
- Kraaijeveld, K., Kraaijeveld-Smit, F.J., y Adcock, G.J. 2003. Does female mortality drive male semelparity in dasyurid marsupials?. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biol. Scien.*, 270 (Suppl 2), S251-S253.
- Kvareno, C. y Ahnej, I. 1996. The dynamics of operational sex ratio and competition for mates. *TREE*, 11: 404-408.
- Lande R, y Barrowclough, G. 1987. Effective population size, genetic variation and their use in population management. En: M. Soule (ed) *Viable populations for conservation*: 7-123. Cambridge University Press, New York.
- Leberg, P. 2005. Genetic approaches for estimating the effective size of populations. *J Wildl. Manag.*, 69:1385-1399.

- Lee, M., Engen, S. y Saether, B. 2011. The influence of persistent individual differences and age at maturity on effective population size. *Proc. R. Soc. B.*, 278(1722): 3303-3312.
- Levins, R. 1968. *Evolution in changing environments: some theoretical explorations* (No. 2). Princeton University Press.
- Lima, M., Stenseth, N., Yoccoz, N. y Jaksic, F. 2001. Demography and population dynamics of the mouse opossum (*Thylamys elegans*) in semi-arid Chile: seasonality, feedback structure and climate. *Proc. R. Soc.*, 268: 2053-2064.
- Loretto D. y Vieira M.V. 2005. The effects of reproductive and climatic seasons on movements in the black-eared opossum (*Didelphis aurita wied-neuwied*, 1826). *J. Mammal.*, 86: 287-293.
- Lott, D.F. 1991. *Intraspecific variation in the social systems of wild vertebrates* (Vol. 2). Cambridge University Press.
- Luebert, F. y Pliscoff, P. 2006. *Sinopsis bioclimatica y vegetacional de Chile*. Editorial Universitaria.
- Luikart, G., Ryman, N., Tallmon, D.A., Schwartz, M.K. y Allendorf, F.W. 2010. Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA-based approaches. *Conserv. Gen.*, 11(2): 355-373.
- Mace, G.M. y Lande, R. 1991. Assessing extinction threats: Towards a reevaluation of IUCN threatened species categories. *Conserv. Biol.*, 5:148-157.
- Madsen, T., Shine, R., Olsson, M. y Wittzell, H. 1999. Conservation biology: restoration of an inbred adder population. *Nature*, 402(6757): 34-35.



- Matocq, M.D. 2004. Reproductive success and effective population size in woodrats (*Neotoma Macrotis*). *Mol. Ecol.*, 13(6): 1635-1642.
- McEachern, M.B., McElreath, R.L., Van Vuren, D.H., & Eadie, J.M. 2009. Another genetically promiscuous 'polygynous' mammal: mating system variation in *Neotoma fuscipes*. *Anim. Behav.*, 77(2): 449-455.
- Muñoz-Pedrerros, A. y Yañez, J. 2009. Mamíferos de Chile. CEA ediciones, Chile.
- Nomura, T. 2002. Effective size of populations with unequal sex ratio and variation in mating success. *J. Anim. Breed. Gene.*, 118: 297-310.
- Nunney, L. y Elam D. 1994. Estimating the Effective Population Size of Conserved Populations. *W. Soc. Conserv. Biol*, 8: 175-184.
- Otis, D.L., Burnham, K.P., White, G.C. y Anderson, D.R. 1978. Statistical inference from capture data on closed animal populations. *Wildlife monographs*, 62: 1-135.
- Palstra, F.P. y Ruzzante, D.E. 2008. Genetic estimates of contemporary effective population size: what can they tell us about the importance of genetic stochasticity for wild population persistence?. *Mol. Ecol.*, 17(15): 3428-3447.
- Palstra F.P y Fraser, D. 2012. Effective/Census population size estimation: a compendium and appraisal. *Ecol. Evol.*, 2: 2357-2365.
- Parker, P.G. y Waite, T.A. 1997. Mating systems, effective population size, and conservation of natural populations. *En: J Clemmons y Buchholz R (eds) Behavioral approaches to conservation in the wild: 243-261. Cambridge University Press, Cambridge.*

- Pearse, D.E. y Anderson, E.C. 2009. Multiple paternity increases effective population size. *Mol. Ecol.*, 18(15): 3124-3127.
- Pérez-González, J., Costa, V., Santos, P., Slate, J., Carranza, J., Fernández-Llario, P., ... y Beja-Pereira, A. 2014. Males and females contribute unequally to offspring genetic diversity in the polygynandrous mating system of wild boar. *PloS one*, 9(12): e115394.
- Pudovkin, A., Zaykin V. y Hedgecock, D. 1996. On the potential for estimating the effective number of breeders from heterozygote excess in progeny. *Genetics*, 144(1): 383-387.
- Quirici, V., Castro, R.A., Ortíz-Tolhuysen, L., Chesh, A.S., Burger, J.R., Miranda, E., Cortéz, A., Hayes, L.D. y Ebensperger, L.A. 2012. Seasonal variation in the range areas of the diurnal rodent *Octodon degus*. *J. Mammal.*, 91: 458-466.
- Ribble, D.O. 1992. Lifetime reproductive success and its correlates in the monogamous rodent, *Peromyscus californicus*. *J. Anim. Ecol.*, 61: 457-468.
- Rowe, G. y Beebee, T.J.C. 2004. Reconciling genetic and demographic estimators of effective population size in the anuran amphibian *Bufo calamita*. *Conserv. Gene.*, 5(3): 287-298.
- Roy Nielsen, C.L. y Nielsen, C.K. 2007. Multiple paternity and relatedness in southern Illinois raccoons (*Procyon lotor*). *J. Mammal.*, 88(2): 441-447.
- Ryser, J. 1992. The mating system and male mating success of the Virginia opossum (*Didelphis virginiana*) in Florida. *J. Zool.*, 228: 127-139.

- Sabat, P., Bozinovic, F. y Zambrano, F. 1995. Role of dietary substrates on intestinal disaccharidases, digestibility, and energetics in the insectivorous mouse-opossum (*Thylamys elegans*). *J. Mammal.*, 76: 603-611.
- Schmeller, D.S. y Merilä, J. 2007. Demographic and Genetic Estimates of Effective Population and Breeding Size in the Amphibian *Rana temporaria*. *Conserv. Biol.*, 21: 142-151.
- Schwartz, M.K., Tallmon, D.A. y Luikart, G. 1998. Review of DNA-based census and effective population size estimators. *Anim. Conserv.*, 1(04): 293-299.
- Selander, R. 1970. Behavior and genetic variation in natural populations. *Am. Zool.*, 10(1): 53-66.
- Simonetti, J.A. 1989. Microhabitat use by small mammals in central Chile. *OIKOS*, 56: 309-318.
- Shuster, S.M. 2009. Sexual selection and mating systems. *PNAS*, 106(Supplement 1), 10009-10016.
- Solari, S. y Teta, P. 2008. *Thylamys elegans*. *En: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.1. URL: [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). Revisado el 10 Marzo 2015.*
- Solomon, N.G. 1993. Body size and social preferences of male and female prairie voles, *Microtus ochrogaster*. *Anim. Behav.*, 45(5): 1031-1033.
- Spielman D., Brook B. y Frankham, R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *PNAS*, 101: 15261-15264.

Stewart, K.R. y Dutton, P.H. 2014. Breeding sex ratios in adult leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) may compensate for female-biased hatchling sex ratios. *PloS one* 9(2) e88138.

Sugg, D.W. y Chesser, R.K. 1994. Effective population sizes with multiple paternity. *Genetics*, 137(4): 1147-1155.

Taylor, A.C., Cowan, P.E., Fricke, B.L., y Cooper, D.W. 2000. Genetic analysis of the mating system of the common brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) in New Zealand farmland. *Mol. Ecol.*, 9(7): 869-879.

Tregenza, T. y Wedell, N. 2000. Genetic compatibility, mate choice and patterns of parentage: invited review. *Mol. Ecol.*, 9:1013-1027.

UICN. 2012. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Segunda edición. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido: UICN. vi + 34pp. Originalmente publicado como IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. Second edition. (Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN, 2012).

Untergrasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M, Rozen SG. 2012. Primer3 – New capabilities and interfaces. *Nuc. Acids Res.*, 40(15):e115.

Valenzuela, N. 2000. Multiple paternity in side-neck turtles *Podocnemis expansa*: evidence from microsatellite DNA data. *Mol. Ecol.*, 9(1): 99-105.

Vanpé, C., Kjellander, P., Galan, M., Cosson, J.F., Aulagnier, S., Liberg, O. y Hewison, A.M. 2008. Mating system, sexual dimorphism, and the opportunity for sexual selection in a territorial ungulate. *Behav. Ecol.*, 19(2): 309-316.

- Vásquez, R. 1996. Patch utilization by three species of Chilean rodents differing in body size and mode of locomotion. *Ecology* 77: 2343-2351.
- Waples, R.S., Luikart, G., Faulkner, J.R. y Tallmon, D.A. 2013. Simple life-history traits explain key effective population size ratios across diverse taxa. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 280(1768): 2013.1339.
- Wauters, L., Dhondt, A.A. y De Vos, R. 1990. Factors affecting male mating success in red squirrels (*Sciurus vulgaris*). *Ethol. Ecol. Evol.*, 2(2): 195-204.
- Weir, L.K., Grant, J.W. y Hutchings, J.A. 2011. The influence of operational sex ratio on intensity of competition for mates. *Am. Nat.*, 177:167-176.
- White, G.C. y Burnham, K.P. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of marked animals. *Bird study*, 46(S1): S120-S139.
- Wolff, J.O y Macdonald, D.W. 2004. Promiscuous females protect their offspring. *TREE* 19:127-134.
- Woodman, N., Slade, N.A., Tim R.M. y Schidt C.A. 1995. Mammalian community structure in lowland, tropical Peru, as determined by removal trapping. *Zool. J. Linn. Soc. Lond.*, 113: 1-20.
- Wright, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 16: 97-159.
- Wright, S. 1938. Size of population and breeding structure in relation to evolution. *Science*, 87: 430-431.
- Yue, G.H y Hong, X.J. 2014. Practical Considerations of Molecular Parentage Analysis in Fish. *J. World Aquac. Soc.*, 45:89-103.