

Seria a III-a

TEZE DE DOCTORAT

EVALUAREA STRUCTURII GENETICE A URSULUI BRUN (*URSUS ARCTOS* L.) DIN CARPAȚII ROMÂNIEI PRIN ANALIZE DE MARKERI MOLECULARI

PUBLICATĂ DE INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE
ÎN SILVICULTURĂ „MARIN DRĂCEA” - INCDS

Adresa: Bd. Eroilor nr. 128
Voluntari, 077190, Ilfov
Tel./Fax: 021 350 32 40 / 021 350 32 45
E-mail: comunicare@icas.ro.
Site: www.editurasilvică.ro; www.icas.ro.

Referenți științifici:

prof. univ. dr. ing. Augustin Vlaic,

Universitatea de Științe Agricole și Medicină
Veterinară, Facultatea de Zootehnie și
Biotehnologii, Cluj-Napoca, România

prof. univ. dr. hab. Ovidiu Ionescu

Universitatea Transilvania din Brașov, Facultatea
de Silvicultură și Îmbunătățiri Forestiere,
Brașov, România

Tipărirea lucrării a fost finanțată prin proiectul de cercetare PN 19070601 „Analiza componentelor spațiale și temporale ale conectivității dintre ariile protejate din grupa Sudică a Carpaților Orientali” contractat în cadrul programului „Gestionarea durabilă a pădurilor pentru asigurarea biodiversității și furnizarea de servicii ecosistemice multiple în condițiile schimbărilor socio-economice și de mediu- BIOSERV” - MINISTERUL CERCETĂRII, INOVĂRII ȘI DIGITALIZĂRII.

Copertă: Eliza-Maria Cosma
Tehnoredactare: Eliza-Maria Cosma
Foto-Grafică: Ancuța Fedorca

**EVALUAREA STRUCTURII GENETICE A
URSULUI BRUN (*URSUS ARCTOS* L.)
DIN CARPAȚII ROMÂNIEI PRIN
ANALIZE DE MARKERI MOLECULARI
-carte electronică online-**

Seria TEZE DE DOCTORAT

Ancuța FEDORCA

**EVALUAREA STRUCTURII GENETICE A
URSULUI BRUN (*URSUS ARCTOS* L.)
DIN CARPAȚII ROMÂNIEI PRIN
ANALIZE DE MARKERI MOLECULARI**



SILVICĂ

Voluntari | 2021

ISBN 978-606-8020-79-2

REZUMAT

Cea mai mare populație din Europa este supusă riscului fragmentării, în contextul dezvoltării infrastructurii, determinarea variabilității genetice și stabilirea setului de măsuri necesare pentru asigurarea conectivității habitatelor, reprezintă fundamente ale conservării pe termen lung a ursului brun.

S-a constatat existența unei singure populații cu o diversitate genetică ridicată de-a lungul Carpaților, rezultat confirmat prin analiza bayesiană. În schimb, structura de familie a urșilor habituați reprezintă o amenințare asupra echilibrului său genetic, pe termen lung existând pericolul apariției de exemplare degenerare, ca urmare a consangvinizărilor repetate posibile.

S-a confirmat utilitatea corelogramei Mantel în determinarea mediei lățimilor și lungimilor poligonului convex care reprezintă home range-ul femelelor analizate. Aplicarea testului Mantel, testului Parțial Mantel și analiza regresiei multiple a indicat influența râurilor, pantei, expoziției nord-estice și a drumurilor cu trafic intens asupra mișcării indivizilor de urs. Predicția fluxului gene rezultată din modelarea factorilor amintiți fără factorul râuri (corelat cu factorul drumuri) a indicat reducerea acestuia de-a lungul a patru zone: Valea Prahovei, Valea Oltului, Praid-Piatra Neamț și Bistrița-Suceava și existența unor zone favorabile traversării infrastructurii.

Confirmarea prin intermediul telemetriei, a existenței unor astfel de zone de funcționare a fluxului genic, așa cum este în cazul drumurilor: DN1, DN1A, culoarul Rucăr-Bran și Bistrița-Suceava, accentuează importanța menținerii conectivității habitatelor. Acest studiu scoate în evidență puterea ridicată a metodei aplicate în detectarea proceselor genetice la scară fină într-o populație mare, continuă, acum când impactul infrastructurii rutiere asupra populațiilor sălbatice tocmai a devenit o problemă serioasă.

ABSTRACT

The largest population of Europe is under the threat of fragmentation, due to infrastructure development. Determination of genetic diversity, respectively establishment of specific measures implemented in management are necessary, in order to ensure habitats connectivity and long term conservation of brown bear.

Model-based clustering indicated one large and continuous population, across the Carpathians, having a high genetic diversity, result confirmed by Bayesian analysis. Conversely family structure of habituated bears poses a threat on the genetic balance, due to the danger of inbreeding occurrence on long term.

The utility of Mantel correlogram to infer the average of width and length convex polygon, which represents the home range of examined females (14 km), has been confirmed. Mantel, Partial Mantel and multiple regression analyses were carried out using distance matrices (MRM) and has been determined the influence of the following landscape features: rivers, slope, North-east facing aspect and roads on brown bear movements. Gene flow predictive models were generated excluding the rivers (due to multicollinearity), and using current density maps has been identified a clear reduction in gene flow at four locations, coinciding with European and national roads with high traffic density: Valea Prahovei, Valea Oltului, Praid-Piatra Neamț și Bistrița-Suceava. Along the listed roads have been identified favourable ecological corridors for crossing the infrastructure.

The confirmation received via telemetry, regarding the existence of such corridors along roads where gene flow is conducted (DN1, DN1A, Rucăr-Bran and Bistrița-Suceava), emphasizes the importance of maintaining habitat connectivity. This study highlights the power of landscape genetics to detect fine scale genetic processes within a single, large, continuous population, when the impact of road infrastructure on wildlife populations has just become a serious problem.

Cuprins

REZUMAT	5
ABSTRACT	6
INTRODUCERE.....	11
CAPITOLUL 1. STADIUL ACTUAL AL CUNOȘȚINȚELOR	13
1.1. Sistematica și istoricul speciei	13
1.2. Distribuția ursului brun (<i>Ursus arctos</i>) la nivel mondial și în Europa	14
1.3. Distribuția și dinamica speciei în România	16
1.4. Ecologia și etologia speciei	18
1.4.1. Dieta.....	18
1.4.2. Reproducere, organizare socială și dispersie	19
1.4.3. Habitatul speciei	20
1.4.4. Raza de acțiune și activitatea	20
1.4.5. Influența factorilor naturali și antropici asupra speciei.....	20
1.4.6. Somnul de iarnă	21
1.5. Studii genetice și direcții de cercetare	22
1.5.1. Istoricul studiilor genetice în conservarea speciei	22
1.5.2. Evaluarea diversității genetice și a structurii populaționale ...	23
1.6. Determinarea influenței factorilor naturali și antropici asupra fluxului de gene (eng. landscape genetics)	26
1.7. Analize de ADN mitocondrial	27
1.8. Conservarea genetică și managementul populației.....	30
CAPITOLUL 2. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRILOR.....	32
CAPITOLUL 3. LOCALIZAREA STUDIULUI, MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE	33
3.1. Localizarea studiului	33
3.2. Materialul de cercetare	33
3.3. Metodele de cercetare.....	35
3.3.1. Metodologia de lucru pentru analizele genetice	36
3.3.1.1. Izolarea ADN-ului	36
3.3.1.1.1. Protocolul CTAB.....	36
3.3.1.1.2. Protocolul Chelex	37

3.3.1.1.3. Kitul Macherey – Nagel	38
3.3.1.1.4. Cartușele pentru izolare Maxwell® 16.....	39
3.3.1.2. Testarea calității și cantității ADN-ului	40
3.3.1.3. Măsurarea cantității de ADN utilizând spectrofotometrul NanoDrop8000	41
3.3.1.4. Analizele de microsatețiți	42
3.4. Analiza datelor.....	47
3.4.1. Evaluarea parametrilor și a diversității genetice	47
3.4.2. Analiza de tip landscape genetics	48
3.4.2.1. Testarea bazei de date și codarea celulelor raster	48
3.4.2.2. Ipoteze ale modelării rezistenței peisajului la mișcarea indivizilor	53
3.4.2.3. Analiza statistică a datelor	55
CAPITOLUL 4. REZULTATE ȘI DISCUȚII	57
4.1. Rezultate	57
4.1.1. Analiza de tip landscape genetics	57
4.1.1.1. Testări privind diversitatea genetică.....	57
4.1.1.2. Diversitatea genetică a urșilor habitați și a celor nehabitați din zona Valea Prahovei-Brașov.....	63
4.1.1.3. Diversitatea genetică a populației de urs din România	67
4.1.1.3.1. Parametrii genetici.....	67
4.1.1.3.2. Structura populațională	68
4.1.2. Analiza de tip landscape genetics	71
4.1.2.1. Izolarea prin distanță	71
4.1.2.2. Izolarea prin distanță	75
4.1.2.3. Hărțile predictive ale fluxului de gene și ale conectivității între habitatele specifice ursului.....	82
4.1.2.4. Validarea modelului predictiv al fluxului de gene..	100
4.1. Discuții	107
CAPITOLUL 5. CONCLUZII FINALE. CONTRIBUȚII ORIGINALE. RECOMANDĂRI PENTRU PRACTICĂ. DISEMINAREA REZULTATELOR. DIRECȚII VIITOARE DE CERCETARE.....	118
5.1. Concluzii finale.....	118
5.2. Contribuții originale	122
5.3. Recomandări pentru practică.....	122
5.4. Direcții viitoare de cercetare	123
BIBLIOGRAFIE	124

CURRICULUM VITAE RO	147
CURRICULUM VITAE ENG	149

INTRODUCERE

Europa modernă este caracterizată de un peisaj natural fragmentat de așezări umane cu densități ridicate ale populației. Pierderea habitatelor și fragmentarea reprezintă cele mai mari amenințări exercitate asupra biodiversității, constituind procese majore ale schimbării peisajului (Mortelliti et al. 2011).

Studierea impactului dezvoltării infrastructurii, în special a sistemul de autostrăzi, asupra populațiilor din fauna sălbatică a devenit o preocupare intensă în managementul speciilor la nivel mondial (Fahrig și Rytwinski 2009). Pentru carnivore, drumurile traficate intens joacă rolul unei bariere asupra mișcării indivizilor (Riley et al. 2006) crescând de asemenea și mortalitatea (McLellan 2008) și inevitabil contribuind la descreșterea conectivității între populații/indivizi (Cushman et al. 2006; Elliot et al. 2014).

Cea mai mare populație de urs din Europa, exceptând Rusia, se regăsește în Carpații românești (Ionescu 1999), fiind o populație stabilă (Straka et al. 2012) răspândită majoritar în bioregiunea alpină (Ionescu 1999). Studiile anterioare desfășurate pe exemplare de urs din România au indicat prezența unei singure populații, fără substructurare genetică, și cu o valoare ridicată a diversității genetice. Astfel populația de urs din țara noastră a înregistrat una din cele mai ridicate valori ale diversității genetice din lume (Cotovelea et al. 2013). O amenințare asupra structurii populaționale o reprezintă urșii habituați, aceștia manifestând un comportament care nu este natural, tolerând prezența omului în mod neobișnuit (Schwartz et al. 2006). Amenințarea se manifestă asupra diversității genetice, deoarece concentrarea lor în anumite zone permite formarea liniilor înrudite, care pot să conducă în timp la efecte specifice incidenței consangvinizării.

În ceea ce privește istoricul ursului în România, măsurile de management aplicate în trecut au contribuit la menținerea unei singure populații; mărimea acesteia nu a scăzut niciodată sub 800 de indivizi (Ionescu 1999), ceea ce a facilitat schimbul de informație genetică. Măsurile de strictă protecție adoptate în trecut, pe parcursul a câtorva decenii, au contribuit la creșterea efectivelor de urs brun până la un maxim de 8000 de indivizi, estimați la sfârșitul anilor '80 (Ionescu 1999).

Conceptul de conectivitate, definit inițial de Taylor et al. (1993), reprezintă gradul în care peisajul facilitează sau împiedică mișcarea indivizilor între locurile cu resurse. Dacă se analizează perioada 2014 - 2022, obiectivul central al

programului guvernamental, ca urmare a adoptării legislației Uniunii Europene, prevede construirea de autostrăzi. Dacă acesta va avea finalitate, infrastructura cu mare capacitate de transport va traversa habitatul ursului brun, putând determina fragmentare și posibile pierderi ale conectivității habitatelor favorabile existenței speciei.

Hărțile privind predicția fluxului de gene reprezintă cea mai precisă metodă în fundamentarea măsurilor de atenuare a impactului factorului antropic asupra speciilor (poduri verzi, viaducte, tunele, panouri de protecție), iar autoritățile responsabile cu dezvoltarea infrastructurii de transport trebuie să realizeze proiectele de dezvoltare luând în considerare această bază (Balkenhol et al. 2009).

În prezent, cele mai utilizate instrumente în conservarea speciilor și în determinarea impactului infrastructurii sunt modelele de conectivitate, care au rolul de a simula efectele fragmentării induse de aceste bariere (Galpern și Manseau 2013). De asemenea, modelele de conectivitate au rolul de a genera modele de rezistență ale peisajului la mișcarea naturală a indivizilor, având la bază costurile necesare efectuării mișcării, această modelare fiind o metodă utilă pentru cartografierea potențialelor coridoare și estimarea conectivității (Elliot et al. 2014).

În aceeași măsură, coridoarelor de conectivitate trebuie să aibă la bază modelarea factorilor naturali și antropici, iar aceste evaluări să fie precedate de obținerea de date prin intermediul studiilor de telemetrie și a observațiilor directe. Aceste metode îmbinate care vizează ecologia, etologia și caracteristicile genetice ale speciei reprezintă un instrument de analiză complet, menit să contribuie la conservarea pe termen lung a speciei, prin asigurarea schimbului de informație genetică dintre indivizi.

CAPITOLUL 1. STADIUL ACTUAL AL CUNOȘTINȚELOR

1.1. Sistematica și istoricul speciei

Ursul brun (*Ursus arctos* Linnaeus, 1758) este încadrat în Regnul *Animalia*, Încregătura *Cordata*, Clasa *Mamifere*, Ordinul *Carnivora*, Familia *Ursidae*, Subfamilia *Ursinae*, Genul *Ursus*, Specia *Ursus arctos* (IUCN 2014).

De-a lungul timpului, ursul a jucat mai multe roluri în viața omului, fiind considerat un adevărat simbol (Servheen et al. 1990). Dacă în epoca preistorică ursul era vânat pentru carnea sa și pentru blană, fiind o importantă sursă de hrană, mai apoi a jucat un rol foarte important în mitologie și artă, fiind un simbol al victoriei creștinismului asupra păgânismului (Kellert 1994).

La nivel mondial există 8 specii de urs, dintre care ursul brun (*Ursus arctos* L.) este cea mai răspândită și bine reprezentată (Servheen et al. 1999; Schwartz et al. 2003). Specia ocupă habitate diverse, care variază de la păduri dese, subalpine și zone de munte, până la zone de tundră (Servheen et al. 1990). Încadrat în categoria marilor carnivori, ursul brun necesită disponibilitatea unor spații largi, conservarea acestuia devenind astfel o provocare (Mech 1995; Nowell și Jackson 1996), deoarece răspândirea sa este condiționată de evoluția numerică a factorului antropic (Linnell 2001). Astfel, în jurul anului 1804, s-a înregistrat primul miliard de locuitori la nivel mondial, timpul necesar pentru dublarea cifrei fiind de aproximativ 123 de ani (UNS 1999). Numărul populației umane a înregistrat o creștere explozivă de-a lungul ultimelor decenii. După atingerea cifrei de 2 miliarde de locuitori, au fost necesari doar 47 de ani ca populația să se dubleze. După aproximativ 38 de ani se atinge cifra record de 7 miliarde de locuitori (WPC 2012).

Această explozie demografică a populației a condus la exercitarea de presiuni majore asupra mediului, inclusiv la reducerea suprafețelor de pădure, respectiv fragmentarea habitatelor naturale utilizate de ursul brun (Swenson et al. 2000). Totodată, evoluția societății a determinat schimbarea percepției umane față de această specie, astfel încât în secolele XIX și XX ursul brun a fost exterminat din zone întinse ale Americii de Nord și ale Europei, fiind supus, astfel, persecuției factorului antropic (Zedrosser et al.

2001). Expansiunea populației umane a determinat, de asemenea, limitarea habitatelor utilizate de către specie și mai mult de atât, oamenii au întreprins adevărate campanii pentru eliminarea acesteia (Weber și Rabinowitz 1996; Woodroffe 2000; Gittleman și Gomper 2001). Dezvoltarea economică din ultimele decenii a dus, totuși, la schimbarea atitudinii populației, în special în zona urbană, și a determinat nașterea presiunilor politice pentru protejarea ursului, finalitatea regăsindu-se de altfel în schimbarea statutului speciei (Ionescu 1999).

Datorită importanței pe care o au marile carnivore în menținerea echilibrului biologic, s-a elaborat o legislație care să ofere o mai bună protecție și conservare a acestora. Astfel, prin Convenția de la Berna (1979) și Directiva Habitate 92/43/EEC, ursul brun, alături de lup și râs, a devenit specie strict protejată (Anexa II) la nivel european. De asemenea, prin Convenția de la Washington-CITES (1973) și Regulamentul nr. 338/97 din 09.12.1996 al Uniunii Europene, s-a reglementat exportul de specii de faună și floră protejate. La momentul aderării României la Uniunea Europeană, s-a adoptat legislația specifică, ursul fiind declarat specie strict protejată, însă s-a menținut extragerea anuală cu un nivel maxim de intervenție, care însă să nu afecteze conservarea acestuia, dar care să mențină nivelul populației în fondurile cinegetice raportat la efectivul optim (MMSC 2013), având la bază pagubele provocate de către specie.

1.2. Distribuția ursului brun (*Ursus arctos*) la nivel mondial și în Europa

Conform IUCN (Uniunea Internațională pentru Conservarea Naturii), ursul brun se regăsește pe lista roșie a speciilor amenințate, în consecință, are nevoie de protecție (Servheen et al. 1999). În Figura 1 este reprezentată distribuția speciei la nivel mondial.

În prezent, specia ocupă teritoriile de aproximativ 5 milioane km² în partea nord-estică a Americii de Nord, aproximativ 800 mii km² în Europa, exceptând Rusia și o suprafață întinsă din nordul Asiei (Servheen et al. 1990; Swenson et al. 1994; Swenson et al. 1998a; Zedrosser et al. 2001; Clark et al. 2002). La nivel mondial sunt estimate 200000 de exemplare de urs brun, iar cele mai mari populații se găsesc în Rusia (100.000 indivizi), America de Nord (33.000 de indivizi), Canada (25.000 de indivizi) și Europa (50.000 de indivizi). Zona de sud a Americii de Nord (Parcul Național Yellowstone și munții din zona Montana) cuprinde populații mici, izolate, cu un minim de 15 indivizi în cea de-a doua regiune și un maxim de 500 de indivizi în prima regiune (McLellan et al. 2008).

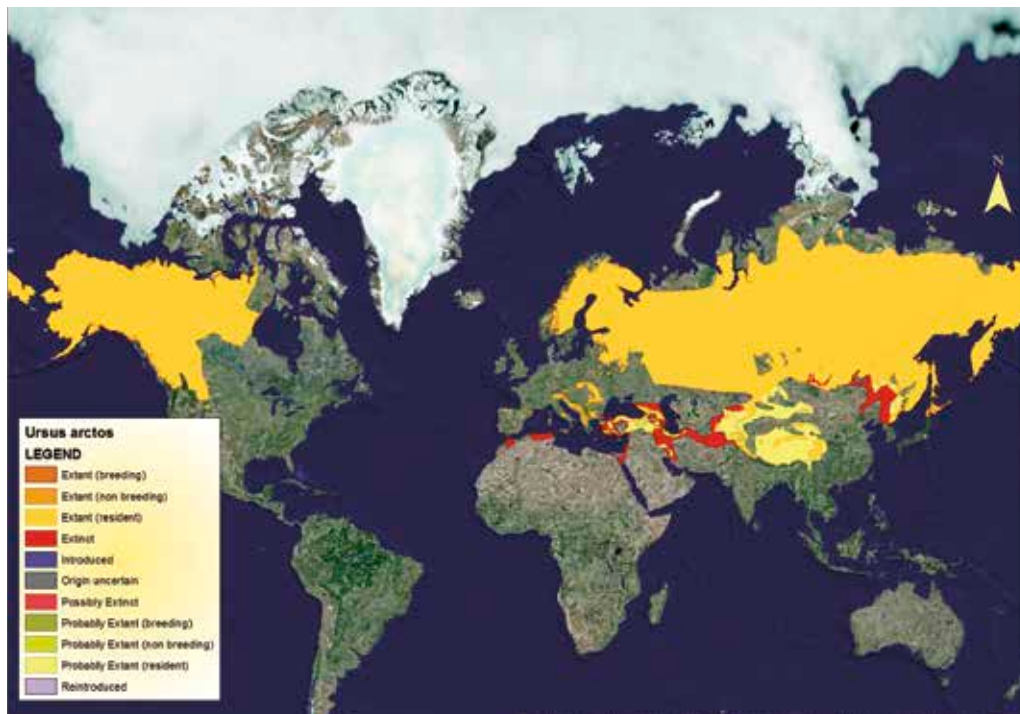


Fig. 1. Distribuția ursului brun în lume (IUCN 2014)
Brown bear world distribution (IUCN 2014)

În trecut, în Europa, populația de urs brun a fost larg răspândită și bine reprezentată. Specia a avut de suferit, fiind supusă unei permanente persecuții, din cauza contactului direct pe care l-a avut cu oamenii. Animalele domestice și agricultura au fost principalele motive ale apariției conflictelor om-urs, drept consecință, oamenii au inițiat adevărate campanii pentru a elimina cel mai mare prădător din Europa (Taberlet et al. 1994; Swenson et al. 2000; Straka et al. 2009). Procesul de eliminare a speciei a fost aproape finalizat în partea de sud-vest a Europei. Drept consecință, astăzi, în unele zone ale continentului, supraviețuiesc doar populații mici (Figura 2). Acestea se regăsesc în vestul continentului: 2 populații sunt localizate în zona Munților Pirinei (Franța și Spania), fiecare înregistrând mai puțin de 10 exemplare, iar alte două populații se regăsesc în Munții Cantabrici din Spania și au circa 50-60 de exemplare. Încă o populație izolată există în Munții Apenini (Italia), aceasta având aproximativ 50 de urși, iar alta există în sudul Munților Alpi și are în componență 4 indivizi (Swenson et al. 2000; McLellan et al. 2008).

Populații mari de urs brun se regăsesc în zilele noastre în nord-estul Europei, de la Munții Urali până la coasta vestică a Finlandei (37.500 de exemplare), în

Munții Carpați, cuprinzând Slovacia, Polonia, Ucraina și România (8.100 de exemplare), în Alpii Dinarici și Munții Pindului, în sudul Bulgariei și nord-estul Greciei (2.800 de exemplare), în Scandinavia (1.000 de exemplare), în Munții Rila-Rodopi (520 de exemplare), în zona sud-vestică a Bulgariei și nord-estică a Greciei și Munții Stara Planina din zona central-vestică a Bulgariei (Taberlet și Bouvet 1994; Swenson et al. 2000; McLellan et al. 2008; Swenson et al. 2011). În trecut, chiar și populațiile mari din nordul și estul Europei au trecut printr-un gât de sticlă (eng. bottleneck) (Swenson et al. 2000).

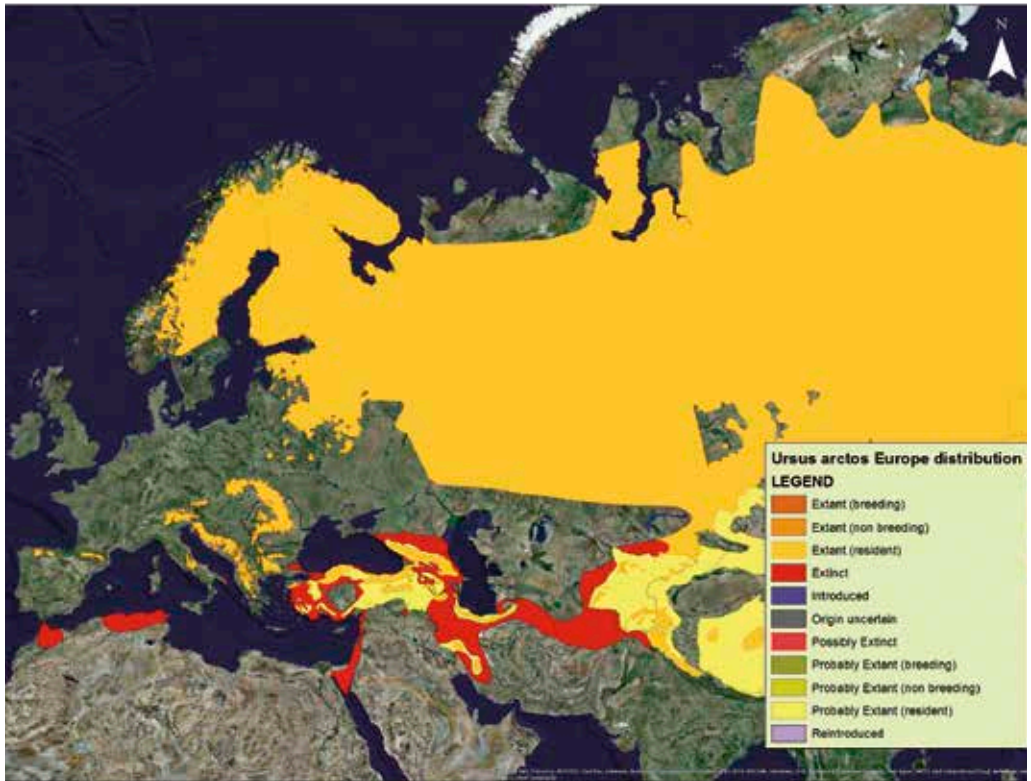


Fig. 2. Distribuția ursului brun în Europa (IUCN 2014)
Brown bear distribution in Europe (IUCN 2014)

1.3. Distribuția și dinamica speciei în România

De-a lungul arcului carpatic se regăsește una din cele mai mari populații de urs brun din Europa, fiind estimată la aproximativ 6.000 de indivizi (Ionescu 1999). Conform cercetărilor care au vizat populația de urs brun în România, aceasta ocupă o zonă de aproximativ 69.000 km², reprezentând 30% din

suprafața țării (Figura 3). Populația este distribuită de-a lungul zonei forestiere a Carpaților României, lipsită de întreruperi majore ale habitatului. În vreme ce 93% din populație este localizată în zona montană, doar 7 procente se regăsesc în zona deluroasă (Ionescu 1999). Distribuția ursului este în proporție de 78% în regiunea biogeografică alpină, în vreme ce doar 22 de procente se suprapun peste bioregiunea continentală.

În populația de urs brun din România au existat oscilații ale numărului de indivizi, resimțindu-se, astfel, influența directă a concepțiilor umane și a diferitelor legi care au guvernat vânătoarea la această specie. De remarcat este faptul că numărul de indivizi prezenți în populație nu a scăzut niciodată sub 800, acesta fiind numărul minim, atins în anul 1950. Este luată în considerare această valoare minimă, deoarece datele existente anterior sunt nesigure. Această scădere a efectivelor a condus la adoptarea unor măsuri de protecție a speciei, fapt care a determinat creșterea populației până în jurul valorii de 8.000 de indivizi, în anul 1988 (Ionescu 1999; Straka et al. 2012).

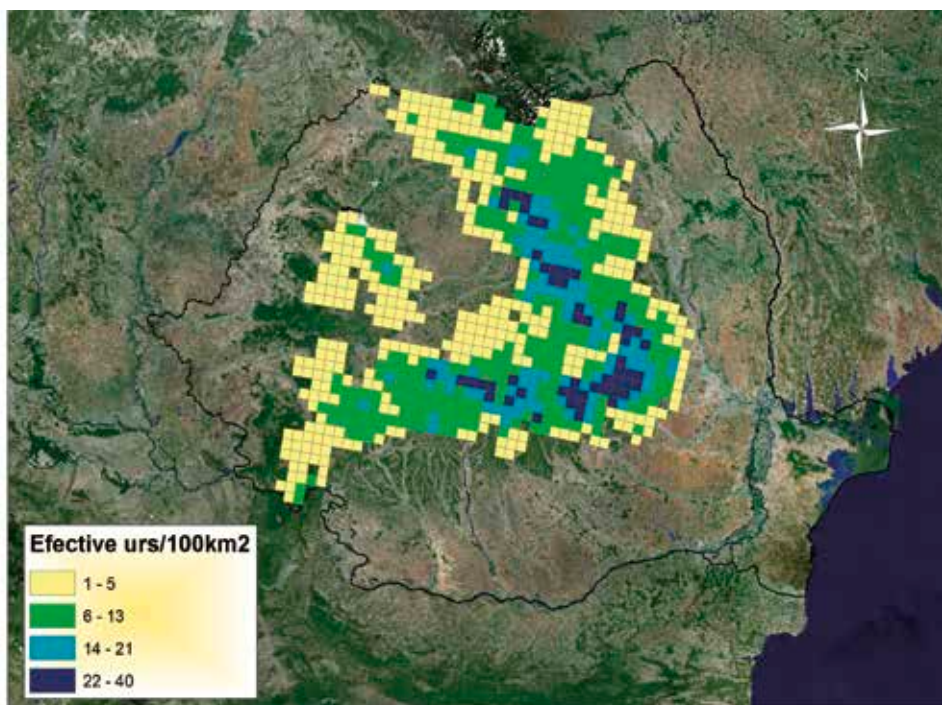


Fig. 3. Distribuția ursului brun în România (Country report 2013-ICAS Brașov)
Bear distribution in Romania (Country report 2013-ICAS Brașov)

În cadrul cercetărilor întreprinse de către Cazacu et al. (2014), focalizate pe determinarea trendului populației de urs din România în perioada 2001-2012, a rezultat o creștere a acestuia în fondurile cinegetice ale județelor Covasna, Harghita și Brașov. La baza acestor prelucrări, care au presupus aplicarea metodei Mann-Kendall (Kendall 1970; Gilbert 1987), au stat datele furnizate de către gestionari, prin fișele fondurilor cinegetice. Așa cum se poate observa în Figura 4, zona de vest a țării se caracterizează printr-un trend descrescător al numărului de indivizi, foarte puține dintre fondurile cinegetice înregistrând o creștere a acestuia.

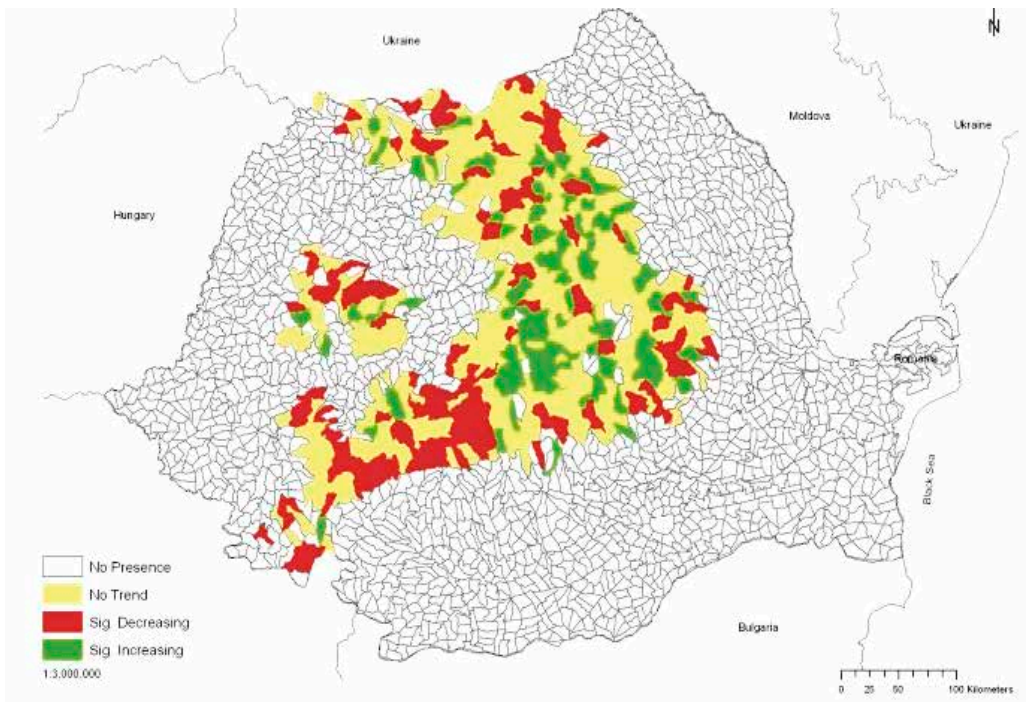


Fig. 4. Trendul populației de urs în România în perioada 2001-2012 (Cazacu et al. 2014)
Spatial trend for brown bear in Romania in 2001-2012 period (Cazacu et al. 2014)

1.4. Ecologia și etologia speciei

1.4.1. Dieta

Ursul brun este o specie omnivoră, satisfăcându-și până la 85% din dietă cu fructe și specii de plante (Ionescu 1999). Pentru satisfacerea cerințelor nutriționale, în perioada de primăvară, ursul brun preferă să consume plante

ierbacee, acestea fiind localizate pe expoziția sudică, această sursă de hrană este, apoi, vara/toamna înlocuită cu fructe de pădure, ghindă, jir etc. (Munro et al. 2006). Proteinele pe care specia le consumă provin de la insecte (furnici), nevertebrate, din carcasele animalelor găsite în pădure sau dobândite prin lupta cu alți prădători, precum și din prădarea speciilor sălbatice (Ionescu și Isuf 1999; Swenson et al. 2000). O mică parte din prada ursului o reprezintă animalele domestice, în special oile, datorită ușurinței cu care acestea pot fi dobândite, însă analizată global, această sursă de hrană nu este de neînlocuit (Linnel et al. 1999; Swenson et al. 2000).

1.4.2. Reproducere, organizare socială și dispersie

Ursul brun este o specie poligamă care atinge vârsta maturității sexuale la 4-6 ani (Swenson et al. 2001). Exemplarele de urs brun interacționează în perioada împerecherii. Exceptând această perioadă și excluzând femelele cu pui de până la 2 ani, în general indivizii se evită reciproc (Swenson et al. 2000). Femelele de urs brun ocupă teritoriile apropiate de cel al mamelor, în vreme ce masculii se deplasează pe distanțe mai mari în căutarea și stabilirea teritoriilor (Swenson et al. 2000).

Fiind o specie dependentă de disponibilitatea și distribuția hranei, teritoriile utilizate de către indivizi pot varia în funcție de regiuni și țări (Swenson et al. 2000). Dacă în Scandinavia teritoriile utilizate de către masculi variază între 833 până la 1055 km² și respectiv 217 la 280 km² pentru femele (Dahle și Swenson 2003), în Croația acestea sunt de dimensiuni mai reduse. Astfel, Huber și Roth (1993) au raportat valori medii ale teritoriilor utilizate de către masculi de 128 km², respectiv 58 km² pentru femele.

Ursul brun se caracterizează prin dispersia masculilor și filopatria femelelor (McLellan și Hovey 2001; Støen et al. 2006; Zedrosser et al. 2007), cei dintâi deplasându-se pe distanțe considerabil mai mari în căutarea hranei și/sau stabilirea teritoriilor. Dispersia biologică este definită ca fiind mișcarea pe care o efectuează individul de la locul nașterii până la locul de reproducere și, de asemenea, de la un loc de reproducere la altul; dispersia biologică definește orice mișcare care are potențialul de a duce la schimbul de informație genetică (Ronce 2007). Filopatria reprezintă tendința unui individ de a sta în locul nașterii sau de a se întoarce/stabili aproape de acesta (Lawrence și Henderson 1989). Ursoaicele tinere își stabilesc teritoriile lângă cel al mamelor, acestea din urmă permițând uneori împărțirea unor părți din teritoriu (Rogers 1987; Kojola și Laitala 2000; Støen et al. 2005).

1.4.3. Habitatul speciei

Principalele componente în ceea ce privește preferința ursului brun pentru habitat sunt: disponibilitatea hranei, a pădurilor întinse (nefragmentate), care oferă liniște și adăpost, respectiv care asigură prezența zonelor propice instalării băloagelor (Ionescu și Isuf 1999; Okarma et al. 2000; BMP 2006). Într-un studiu recent întreprins de către Nawaz et al. (2014) a rezultat faptul că selecția ursului pentru habitat este legată de producția de biomasă vegetală a acestuia. De asemenea, abundența și dispersia indivizilor este corelată cu disponibilitatea resurselor naturale de hrană (McLoughlin et al. 2000). Cercetările desfășurate în Nepal, utilizând tehnicile telemetriei au indicat preferința speciei pentru habitatele poziționate pe expoziția nord-estică (36.8%), respectiv (28.9%) pe expoziția sud-estică (Aryal et al. 2012).

1.4.4. Raza de acțiune și activitatea

Ursul brun este o specie cu densități variate astfel, acesta înregistrează densități scăzute în nordul Europei (5 urși/100 km²) (Swenson et al. 2000), respectiv densități foarte mari în România (9-24 urși/100 km²) (BMP 2006) sau Slovenia (10-20 urși/100 km²) (Jerina et al. 2013). Aceste densități ridicate sunt corelate cu home range-ul și suprapunerea teritoriilor, rezultând astfel dispersia pe sexe. Hrănirea suplimentară realizată la observatoare, o tradiție păstrată mai ales în sud-estul Europei (Ionescu 1999; Jerina et al. 2013), are un aport important și atrage după sine densități ridicate. Teritoriul ocupat de un adult variază în funcție de disponibilitatea hranei, dispersia indivizilor și densitatea populației. Ursul brun poate fi activ ziua și noaptea, depinzând de condițiile mediului fizic înconjurător, de hrană sau de activitățile umane (Swenson et al. 2000).

1.4.5. Influența factorilor naturali și antropici asupra speciei

Europa modernă este caracterizată în general de o densitate foarte ridicată a populației umane și de un peisaj fragmentat. Distrugerea habitatelor și fragmentarea reprezintă cea mai mare amenințare asupra biodiversității Europei și reprezintă, totodată, procesele majore care contribuie la schimbările peisajului (Mortelliti et al. 2011). Astfel, determinarea impactului dezvoltării infrastructurii, în special al autostrăzilor, asupra populațiilor de faună sălbatică a devenit o preocupare majoră și se recomandă a fi introdusă în managementul

tuturor speciilor din întreaga lume (Spellerberg 1998; Fahrig și Rytwinski 2009). Pentru marile carnivore, infrastructura de transport cu trafic intens reprezintă de cele mai multe ori echivalentul unei bariere care împiedică mișcarea naturală a indivizilor (McLellan și Shackleton 1988; Waller și Servheen 2005; Riley et al. 2006). Efectele negative se resimt mai ales prin reducerea fluxului de gene (Alexander et al. 2005; Waller și Servheen 2005) și, bineînțeles, prin creșterea numărului de decese cauzate de accidente rutiere (McLellan și Shackleton 1988; McLellan 2008; Benn și Herrero 2002; Nielsen et al. 2004). Impactul negativ al infrastructurii, conduce în timp către diminuarea conectivității în interiorul sau între populațiile de carnivore.

Dacă în general ursul evită zonele unde se desfășoară activități umane (Mace și Waller 1996; Jerina et al. 2003; Nellemann et al. 2007), unii indivizi se abat de la acest comportament și preferă procurarea hranei cu ușurință, din resturile menajere (Elfstrom et al. 2014), dacă nu sunt persecutați. Aceștia din urmă sunt considerați indivizi habituați, manifestând un comportament care nu este natural, tolerând prezența omului în mod neobișnuit (Schwartz et al. 2006). În căutarea sursei de hrană, mai ales în cazul densităților ridicate, ursul se apropie de localități, iar dacă deșeurile menajere sunt disponibile, individul va prefera oricând acest tip de hrană, care se poate obține cu ușurință (Gunther et al. 2004; Rogers 2011). Prezența urșilor în preajma așezărilor umane este adesea problematică, deoarece ei pot provoca pagube însemnate (Røskoft et al. 2003). Așa cum este cazul României, pagubele anuale înregistrate, produse de către exemplarele de urs, se ridică la mai mult de 2 milioane lei și conduc la necesitatea extragerii în cadrul nivelului maxim de intervenție, care este de peste 300 indivizi.

1.4.6. Somnul de iarnă

Somnul de iarnă reprezintă adaptarea ursului brun la condițiile grele de mediu din perioada respectivă, hrana disponibilă în acest anotimp fiind limitată (Manchi și Swenson 2005). Durata somnului de iarnă este direct corelată cu locația geografică a speciei (Swenson et al. 2000), cu variațiile anuale ale disponibilității hranei, cu accesul la aceasta (Ionescu 1999), dar și cu statutul reproductiv al femelelor: femelele gestante intră mai devreme în bârlog și ies mai târziu, comparativ cu femelele care au pui, care intră mai târziu și ies mai devreme (Friebe et al. 2001).

1.5. Studii genetice și direcții de cercetare

1.5.1. Istoricul studiilor genetice în conservarea speciei

Începând cu anul 1990, în vederea asigurării conservării pe termen lung a speciilor, a fost propusă corelarea directă a managementului și a studiilor genetice (Straka et al. 2009; Drewry et al. 2013). Primul pas în studiile genetice privind conservarea ursului brun au constat în cercetări ale ADN-ului mitocondrial, urmărind-se corelarea distribuției geografice, cu filogenia speciei, în vederea identificării și stabilirii unităților de conservare (Mulis et al. 1986; Taberlet et al. 1994). Au urmat apoi, la scurt timp, cercetările pentru analiza ADN-ului nuclear, care au vizat determinarea diversității genetice a populațiilor de urs brun, diferențierea acestora, precum și analiza altor parametrii genetici.

După aproape 3 decenii de la debutul acestor cercetări, biologia moleculară s-a dezvoltat uimitor, în prezent fiind posibilă citirea genotipurilor indivizilor utilizând diferite tipuri de markeri ADN. A căror vizualizare se realizează cu ajutorul secvențiatorului (Bertorelle et al. 2009).

În zilele noastre, în studiile genetice care vizează determinarea măsurilor de conservare a speciei, cei mai utilizați markeri sunt microsateleții di/tetranucleotidici, aceștia fiind validați și folosiți în studii populaționale, analize de paternitate și soluționarea cazurilor de braconaj (Kleven et al. 2012).

Dacă în trecut chiar și extragerea ADN-ului reprezenta uneori o piedică în desfășurarea cercetărilor, astăzi izolarea acestuia se realizează din variate tipuri de probe (țesut, păr, oase și fecale). Aceasta permite utilizarea tehnicilor non-invazive și colectarea probelor fără perturbarea liniștii animalelor (Kohn et al. 1999; Taberlet et al. 1999; Segelbacher 2002; Cotovelea et al. 2013).

Ursul brun reprezintă un model al cercetărilor genetice, primul studiu care a vizat utilizarea tehnicilor non-invazive în estimarea mărimii populației desfășurându-se pe această specie (Taberlet et al. 1999; Straka et al. 2009; Karamanlidis et al. 2011). De asemenea, primele analize care au vizat evaluarea factorilor naturali și antropici implicați în desfășurarea fluxului de gene (eng. landscape genetics) (Cushman et al. 2006; Manel 2007; Mateo-Sanchez et al. 2014) s-au realizat în perioada premergătoare lansării noii metodologii, pe această specie.

Evoluția cercetărilor privind această specie s-a concretizat în elaborarea unui ghid comun pentru studiul genetic al ursului brun, ghid elaborat în vederea comparării diversității genetice și a diferențierii populațiilor din sud-estul Europei (Karamanlidis et al. 2009). Cadrul comun de lucru a fost propus

tocmai pentru a facilita compararea rezultatelor obținute în urma diferitelor studii. Această inițiativă îi ajută pe noii cercetători prin împărtășirea experienței studiilor genetice finalizate cu succes.

Dacă situația genetică a populației/populațiilor de urs brun este determinată, se vor furniza informații foarte valoroase (valorile diversității genetice, prezența/absența efectului „gâtului de sticlă” (eng. bottleneck) și a driftului genetic, valorile consangvinizării, existența/absența fluxul de gene, prezența/absența izolării genetice a populațiilor, apartenența genetică a indivizilor), care vor contribui la conservarea populațiilor de urs brun pe termen lung (Paule et al. 2007). De aceea, este necesar ca studiile genetice să stea la baza măsurilor de conservare.

1.5.2. Evaluarea diversității genetice și a structurii populaționale

Microsateliții sunt cunoscuți ca secvențe simple repetitive (SSR) sau tandemuri scurte repetitive (STR), reprezentând repetarea unei secvențe de 2-6 perechi de nucleotide. Acești markeri sunt prezenți atât în regiunile care codifică, cât și în cele care nu codifică proteine, fiind caracterizați de codominanță și de un grad ridicat al polimorfismului, comparativ cu alți markeri genetici, și se regăsesc sub mai multe denumiri: STR (engl. short tandem repeats) sau SSLP (engl. simple sequence length polymorphisms), însă cea mai utilizată este cea de microsateliți sau SSR. Astăzi, majoritatea studiilor genetice sunt bazate pe acest tip de markeri ADN (Zane et al. 2002; Curtu și Șofletea 2008), mai ales datorită distribuției acestora în întregul genom și al polimorfismului ridicat pe care-l generează.

Microsateliții sunt utilizați pentru evaluarea structurii genetice, pentru estimarea nivelului diversității genetice, pentru diferențierea populațiilor și, nu în ultimul rând, pentru stabilirea strategiei și a măsurilor de conservare, ori în studii privind determinarea influenței factorilor ecologici și/sau antropici (Bellemain 2004). Aceștia se utilizează pentru obținerea informațiilor despre structura populației, distribuția spațială, paternitate, mișcarea indivizilor, fluxul de gene etc. Cel mai important pas în analizele de ADN nuclear îl reprezintă selectarea setului/seturilor de microsateliți potriviți pentru populația de urs brun (Itoh et al. 2009).

După anul 1994, atunci când au fost descoperiți microsateliții pentru ursul brun (Paetkau 1994), până în prezent a fost identificat un număr ridicat de markeri genetici (Taberlet et al. 1997; Bellemain și Taberlet 2004; Kleven et al. 2012). Astăzi sunt utilizate multiplexe cu 5-10 microsateliți specifici ursului

brun, în scopul reducerii costurilor analizelor și pentru a crește eficiența studiilor genetice (Karamanlidis et al. 2009).

În general, analizele de microsateliți au indicat valori ridicate ale heterozigoției așteptate și a diversității alelelor în populațiile mari, comparativ cu populațiile mici, unde aceste valori au fost mult mai reduse (Swenson et al. 2011). Rezultatele obținute din studiile genetice au confirmat faptul că microsateliții sunt excelenți pentru determinarea structurii populației la o scară precisă (Paetkau et al. 1997).

Studiile genetice au fost aplicate în populațiile de urs la nivel mondial. Considerată ca un întreg, populația de urs brun din Europa a înregistrat cea mai ridicată valoare a diversității genetice (Swenson et al. 2011). În tabelul 1 este prezentată o analiză a studiilor desfășurate în populațiile de urs din întreaga lume și valorile unui parametru genetic (H_e – heterozigoția așteptată), care oferă indici despre diversitatea genetică.

Analizând studiile de până în prezent, cel mai mare nivel al diversității genetice este înregistrat de către populația de urs din Rusia ($H_e=0.83$), în regiunea Kirov Oblast, în vreme ce valoarea cea mai scăzută o înregistrează populația din Spania, urmată îndeaproape de populația din Kodiak ($H_e=0.27$). Populația de urs din România înregistrează pentru diversitatea genetică una dintre cele mai mari valori ($H_e=0.80$ pentru 109 probe analizate), ocupând poziția 3, după Rusia și Finlanda. În analizele de microsateliți efectuate în populația de urs din România s-au utilizat de la 9 la 13 markeri genetici (Zachos et al. 2008; Straka et al. 2012).

Tabel 1. Studii genetice efectuate la ursul brun prin analize de microsateliți
Genetic studies carried out on brown bear using microsatellites

Regiunea	N	H_e	Sursa
Rusia, Kirov Oblast	13	0.83	Tammeleht et al. 2010
Finlanda N	26	0.82	
România	16	0.81	Zachos et al. 2008
România	109	0.80	Straka et al. 2012
Rusia W	32	0.80	Swenson et al. 2011
Rusia, Arkhangelsk Oblast	16	0.79	
Alaska Alaska Range	28	0.78	Waits et al. 2000
Finlanda S	44	0.77	Tammeleht et al. 2010
Balcani S	49	0.77	Karamanlidis et al. 2010

Regiunea	N	H _e	Sursa
Kluane, Yukon	50	0.76	Waits et al. 2000
Albania, Grecia, Macedonia	49	0.76	Karamanlidis et al. 2010
Richardson Mountains NWT	119	0.75	Waits et al. 2000
Alaska, Brooks Range	148	0.75	Waits et al. 2000
Croația, Munții Dinarici	156	0.75	Kocijan 2011; Straka et al. 2012
Alpii Italiei	2793	0.74	De Barba et al. 2010 a
Suedia	380	0.71	Waits et al. 2000; Kindberg et al. 2010;
Slovacia N	71	0.71	Straka et al. 2012
Slovacia C	96	0.70	
Scandinavia NS	108	0.70	Waits et al. 2000
Scandinavia NN	29	0.69	Waits et al. 2000
Flathead River BC/MT	40	0.69	Waits et al. 2000
Scandinavia S	156	0.68	Waits et al. 2000
Estonia	62	0.68	Tammeleht et al. 2010; Swenson et al. 2011
Alaska, Kuskoskim Range	55	0.68	Waits et al. 2000
Scandinavia M	88	0.67	Waits et al. 2000
East Slope, Alberta	45	0.67	Waits et al. 2000
Slovacia E	16	0.65	Straka et al. 2012
Alaska, Admiralty Island	30	0.63	Waits et al. 2000
Coppermine NWT	36	0.61	Waits et al. 2000
Austria	379	0.61	Kruckenhauser et al. 2009
Yellowstone, MT/WY	57	0.55	Paetkau et al. 1998; Waits et al. 2000
Pakistan	28	0.55	Bellemain et al. 2007
Alaska Baranof/Chicago	35	0.49	Waits et al. 2000
Spania, W	39	0.45	Perez et al. 2010
Apeninii Italiei	30	0.44	Lorenzini et al. 2004
Franța W	5	0.40	Taberlet et al. 1997
Insula Kodiak Alaska	34	0.27	Paetkau et al. 1998; Waits et al. 2000
Spania E	71	0.25	Perez et al. 2009

N-Numărul probelor, H_e – Heterozigoția așteptată; BC, Columbia Britanică; Is, Island; MT, Montana; NWT, Northwest Territories; WY, Wyoming, S-Sud, N-Nord, E-Est, W-Vest, C-Central, 379 – metode non-invasive

1.6. Determinarea influenței factorilor naturali și antropici asupra fluxului de gene (eng. landscape genetics)

Pentru a înțelege rolul factorilor naturali și antropici în reglarea structurii demografice a populațiilor naturale, au fost inițiate noi metode de analiză, devenite foarte populare în ultimul deceniu (Manel et al. 2003; Cushman et al. 2006; Taylor et al. 2013). Metoda inovativă: eng. landscape genetics presupune combinarea analizelor genetice cu datele existente în Sistemul de Informații Geografice (GIS; eng. Geographic Information Systems) (Manel et al. 2003; Coulon et al. 2004; Bolliger et al. 2014). Aceasta presupune determinarea interacțiunilor dintre factorii naturali și antropici, respectiv procesele evoluționiste (Manel și Holderegger 2013; Cotovelea 2014).

În paralel cu dezvoltarea explozivă a acestei abordări, a devenit din ce în ce mai evident că aplicarea doar a principiilor geneticii populaționale (Pritchard et al. 2000; Murphy et al. 2008) poate uneori genera rezultate înșelătoare, dacă se analizează populații cu o distribuție continuă (Manel et al. 2013; Elliot et al. 2014).

Pentru a înțelege fluxul de gene și adaptarea lor la nivel macrosistemic este necesar să se implementeze ambele tipuri de analiză, atât la nivel de populație (analiza la scară mare), cât și la nivel de individ. Aceasta din urmă, analiza la scară mică, se bazează pe genotipurile indivizilor și poate fi folosită pentru a determina procesele din interiorul populației care determină tipul de structură genetică (Cushman et al. 2006; Landguth et al. 2010). Astfel, se poate determina dacă indivizii devin diferiți din punct de vedere genetic atunci când crește distanța geografică sau diferențele genetice apar din cauza rezistenței exercitate de către factorii naturali și/sau antropici (McRae 2006; Balkenhol et al. 2009). Studiile anterioare au demonstrat aplicabilitatea acestei abordări (Manel 2007; Landguth et al. 2010; Blair et al. 2012) în cazul unui număr variat de specii, ursul brun numărându-se printre acestea încă de la început (Cushman et al. 2006; Cushman și Landguth 2010; Matheo-Sanchez et al. 2014).

Într-un domeniu relativ nou, așa cum este cel al metodei landscape genetics, care se dovedește a fi dinamic, mai ales în ceea ce privește metoda de analiză statistică utilizată, au existat discuții privind aplicabilitatea testului Mantel (Mantel 1967). Astfel, Guillot și Rousset (2012) au recomandat aplicarea testului Mantel în analiza independenței a două matrici. O alternativă a testului Mantel și a testului Parțial Mantel încorporează analiza regresiei multiple bazată pe matrici de distanță (*MRM*), implementată cu succes până în prezent în studii de

determinare a influenței factorilor antropici și naturali asupra structurii genetice (Legendre et al. 1994; Raufaste și Rousset 2001; Lichstein 2007; Balkenhol et al. 2009; Dyer et al. 2010; Blair et al. 2013). Regresia multiplă a fost utilizată pentru a evalua efectul mai multor variabile, prezentând avantajul testării simultane a efectelor diferiților parametrii (Manly 1986; Holzhauer et al. 2006) sau se poate opta pentru adăugarea de variabile explicative semnificative printr-o procedură etapizată (Legendre et al. 1994). Așa cum sugera Wang (2013), regresia multiplă poate să răspundă în două moduri: în primul rând determină dacă variabilele sunt corelate, iar în cel de-a doilea mod oferă răspunsuri despre cum variabila dependentă se schimbă în raport cu mai multe variabile independente. De asemenea, se poate cuantifica modul în care distanțele genetice răspund la schimbările distanțelor geografice și cele ale factorilor naturali și antropici (coeficientul de regresie), robustețea modelului (coeficientul de determinație) și importanța fiecărei variabile (valoarea lui p).

Rezultatele obținute până în prezent au semnalat prezența efectului ridicat al influenței factorilor naturali și/sau antropici asupra fluxului de gene, prin acestea sugerându-se faptul că analiza la nivel individual (scară mică) reprezintă cea mai bună metodă pentru a explica conectivitatea (Cushman et al. 2006; Neville et al. 2006; Cushman și Landguth 2010). Rezultă astfel modele predictive care au la bază corelația dintre similaritatea genetică a indivizilor și suprafețele de rezistență ale factorilor naturali și/sau antropici (Cotovelea 2014). Suprafețele de rezistență la mișcarea indivizilor se construiesc pe baza ecologiei/etologiei speciei (Cushman și Lewis 2010). Modele predictive se construiesc utilizând scenarii diferite și analizând din punct de vedere statistic relațiile dintre factorii naturali și/sau antropici și genotipurile indivizilor (Cushman et al. 2006; Rose et al. 2006; Blank et al. 2007; Balkenhol et al. 2009).

1.7. Analize de ADN mitocondrial

Filogeografia speciilor poate să fie foarte ușor înțeleasă prin analiza distribuției geografice și compararea acesteia cu filogenia intraspecifică care are la bază secvențele de ADN mitocondrial (Ferris et al. 1983b; Lansman et al. 1983)

La speciile de mamifere, ADN-ul mitocondrial este moștenit pe cale maternă (Avisé et al. 1979; Curtu și Șofletea 2008). Acesta prezintă zone foarte variabile ale regiunii de control și înregistrează o rată foarte ridicată a substituției (Saccone et al. 1991; Matsushashi et al. 1999).

Primele studii genetice desfășurate la nivel mondial pe specia urs au vizat analiza ADN-ul mitocondrial (Ryder 1986; Yu et al. 2007; Yasukochi et al. 2009),

mai exact determinarea polimorfismului care se reflectă în filogeografia speciei. Problematika stabilirii unităților de conservare a speciilor a fost premergătoare acestor studii (Woodruff 1989).

Analiza secvenței de ADN mitocondrial a ursilor bruni din întreaga lume a sugerat existența a cinci linii mitocondriale. Prima linie mitocondrială se regăsește în vestul Europei, cea de-a doua linie este situată în Alaska, Baranof /Chicago, cea de-a treia linie este prezentă în estul Europei, a patra o regăsim în sudul Canadei, iar cea de-a cincea apare în Alaska (Zona Estică) și nordul Canadei (Taberlet și Bouvet 1994; Randi et al. 1995; Kohn et al. 1995; Taberlet et al. 1995). Cele cinci linii mitocondriale sunt distribuite distinct din punct de vedere geografic, însă cu câteva excepții: liniile mitocondriale 1 și 3 se regăsesc în două populații din Suedia (Taberlet et al. 1995); aceeași situație se regăsește în populația de urs brun din România; liniile mitocondriale 3 și 4 se regăsesc în zona Arctică (Waits et al. 1998a; Waits et al. 1998b).

Analizele genetice desfășurate pe ursul brun din Europa au indicat existența a două linii de ADN mitocondrial distincte: linia de est și linia de vest (Taberlet și Bouvet 1994), linia mitocondrială de vest fiind divizată în două încrângături. Prima dintre acestea include urși din zonele: Abruzzo, Trentino, Slovenia, Bosnia, Croația, Grecia și Bulgaria. Cea de-a doua încrângătură este compusă din urși din Cantabria, Munții Pirinei, sudul Suediei și Norvegia. Linia vestică și a fost semnalată ca fiind prezentă și în România, undeva între localitățile Brașov și Sibiu (Taberlet et al. 1994; Zachos et al. 2008).

Linia mitocondrială de est include populațiile de urși din nordul Scandinaviei, estul Europei, Rusia și zone ale României, cu excepția vestului țării (Taberlet și Bouvet 1994; Kohn et al. 1995; Leonard et al. 2000). După Zachos et al. (2008), în cazul țării noastre linia mitocondrială de est este răspândită în aproape tot teritoriul, iar cea vestică este bine delimitată în zona de vest. Numărul redus de probe incluse în analiză ridică un semn de întrebare privind locația liniilor mitocondriale la nivel național. De aceea, este necesar să se demareze un studiu genetic care să analizeze ADN-ul mitocondrial al exemplarelor de urs, dar care să cuprindă un număr mai mare de probe uniform distribuite la nivel național.

Populația de urs din România înregistrează o situație specială, datorată prezenței ambelor linii mitocondriale (Kleven et al. 2012; Tammeleht et al. 2012). De asemenea, Carpații sunt considerați ca fiind o zonă de refugiu în timpul Ereii glaciare, recolonizarea care a urmat a început din Carpații estici, fiind însă mai puțin eficientă decât cea care a pornit din zona Carpaților vestici (Saarma et al. 2007). Particularitatea înregistrată în cadrul populației de urs din România se consideră a fi determinată de filopatria femelelor de urs brun (Taberlet și Bouvet 1994; Taberlet et al. 1995; Straka et al. 2012).

În tabelul 2 sunt prezentate cele 3 studii de ADN mitocondrial desfășurate până acum pe populația de urs din România, rezultând faptul că numărul probelor analizate (de la 4 la 23) a oferit doar o informație de ansamblu, și nu una de detaliu.

Tabel 2. Numărul haplotipurilor de ADNmt identificate în România
Number of mtDNA haplotypes identified in Romania in previous studies

N	N ₁ Linia ESTICĂ	N ₂ Linia VESTICĂ	Referință
4	4	-	Taberlet și Bouvet 1994
23	8	15	Kohn et al. 1995
16	6	10	Zachos et al. 2008

N-numărul de probe, N1-numărul de indivizi care aparțin liniei mitocondriale de est, N2- numărul de indivizi care aparțin liniei mitocondriale de vest

În populația de urs brun din România, a fost identificată o zonă de contact dintre linia mitocondrială de vest și linia mitocondrială de est. Cei mai mulți indivizi au fost atribuiți liniei mitocondriale de vest. De remarcat este faptul că linia de demarcație a ADN-ului mitocondrial apare între localitățile Brașov și Sibiu, pe o distanță de aproximativ 100 de km (Zachos et al. 2008).

Populația de urs brun din România prezintă o situație particulară și împreună cu Scandinavia reprezintă o zonă de contact dintre liniile mitocondriale de vest și de est, rezultată cel mai probabil din încrucișarea de indivizi proveniți din rute diferite de recolonizare postglaciară (Taberlet et al. 1995; Kohn et al. 1995; Waits et al. 2000; Valdiosera et al. 2007). Întreruperea liniilor mitocondriale în Scandinavia se caracterizează printr-o separare clară de 135 de km, linia de vest fiind prezentă în sud, iar cea de est și în nord. În cazul populației de urs din România, întreruperea liniei mitocondriale se observă în cazul liniei de est (Zachos et al. 2008).

Este necesar să se efectueze analize de ADN mitocondrial la un număr cât mai ridicat de exemplare de urs brun, origine din toată țara, care să acopere zonele neexaminate până acum în alte studii. De asemenea, este necesar să se analizeze exemplare din zona Brașov-Sibiu, pentru a se identifica cu exactitate zona de demarcație a celor două linii mitocondriale (Kohn et al. 1995; Zachos et al. 2008).

Creșterea numărului de probe analizate în vederea identificării locației zonei de demarcație a ADN-ului mitocondrial în populația de urs din România va oferi răspunsuri la întrebări legate de „rutele de migrație” ale speciei, de relațiilor filogenice dintre haplotipuri, de diversitatea haplotipurilor și de expansiunea populației.

1.8. Conservarea genetică și managementul populației

Populația a fost definită ca fiind totalitatea organismelor ce aparțin aceleiași grup sau specie, care conviețuiesc în aceeași arie geografică și se reproduc panmictic (Fisher 1999). Prin populație genetică se înțelege un grup de organisme ai cărui membri se pot încrucișa între ei (Hartl 2007). Mărimea populației a fost definită de Luikard et al. (2010) ca fiind numărul de animale adulte care se găsesc în aria de studiu sau care constituie o populație.

Menținerea diversității genetice reprezintă o prioritate pentru toate speciile respectiv în toate populațiile (Allendorf et al. 2007). Odată pierdută, diversitatea genetică este foarte greu de restabilit. În mod particular, populațiile mici și speciile care se reproduc anevoios sunt cele mai amenințate (Polak et al. 2014). Uneori, chiar dacă populația înregistrează efective ridicate și nu trece printr-un „gât de sticlă”, rezultă un nivel scăzut al variației genetice (Hartl et al. 1994). Cel mai adesea, asemenea reduceri de populație au implicații evoluționale, iar consecințele sunt grave (Queiros et al. 2014). Un exemplu particular este cel al populației de urs brun din Scandinavia, acolo unde a existat driftul genetic, dar s-a menținut un nivel ridicat al diversității genetice (Waits et al. 2000), datorită afluxului de masculi în Karelia (Finlanda). În tot acest timp, fluxul de gene dintre cele 4 populații a fost neîntrerupt, contribuind, astfel, la menținerea unei structuri genetice normale (Bellmain 2004). Aceste rezultate sunt relevante în conservarea speciei, sugerând că existența fluxului de gene între populații joacă un rol esențial pentru menținerea viabilității pe termen lung.

În prezent, intensificarea activităților umane și creșterea populației, respectiv fragmentarea habitatelor, dau naștere provocărilor majore pentru elaborarea strategiilor de conservare (Nawaz et al. 2014). Marile carnivore au nevoie de suprafețe de dimensiuni ridicate pentru satisfacerea cerințelor ecologice/etologice și, de aceea, asupra lor se manifestă cea mai mare presiune (Kubo și Shoji 2014). Pentru atenuarea acestor presiuni, se impune elaborarea unor strategii de conservare pe termen lung, care să țină cont de influența factorilor antropici și/sau ecologici și care să fie corelată cu ecologia/etologia speciei și acestea să se implementeze în planurile de management (Polak et al. 2014). Examinarea efectelor variabilelor geografice și ecologice asupra reducerii fluxului de gene în interiorul unei populații ne poate ajuta să înțelegem cum factorii naturali/artificiali modelează variația genetică (Crispo et al. 2006; Wang și Summers 2010; Wang et al. 2013). De asemenea, variația spațială a indivizilor la presiuni și amenințări este diferită, având implicații profunde în conservare (McAlpine et al. 2008).

Managementul speciilor se realizează de cele mai multe ori în interiorul

unor limite administrative (Kark et al. 2009). Ca urmare, fiecare administrator gestionează o parte din populație. Acest tip de management este foarte răspândit din punct de vedere practic, dar poate să fie ineficient, deoarece foarte rar limitele administrative coincid cu cerințele ecologice ale speciei (Lopez-Hoffman et al. 2010) sau cu nevoile de conservare. Programele de conservare care nu răspund nevoilor ecologice ale speciei sunt ineficiente și de aceea se impune depășirea granițelor administrative și implementarea în management a măsurilor rezultate din modelarea influenței factorilor naturali/antropici la nivel de individ (Olea și Mateo-Tomas 2014).

Straka et al. (2012) a sugerat că efectul factorului antropic a condus la izolarea și fragmentarea populațiilor de urs brun între estul și vestul Carpaților, rezultat care este reflectat în diferențierea genetică. Propunerile acestui studiu au vizat adoptarea unor măsuri viitoare de management, în vederea asigurării și restabilirii conectivității habitatelor populațiilor de urs de-a lungul Carpaților.

Conceptul de conectivitate, definit inițial de Taylor et al. (1993), reprezintă gradul în care peisajul facilitează sau împiedică mișcarea indivizilor între locurile cu resurse. Conectivitatea trebuie să se reflecte în deciziile de conservare a speciilor, implicând adoptarea măsurilor de mitigare în cazul construirii rețelelor de transport (Cerdeira et al. 2010) și asigurarea managementului populațiilor transfrontaliere (Chester 2006; Kool et al. 2013). Pentru desemnarea coridoarelor de trecere este recomandat să se utilizeze informația provenită din modelele de simulare a rezistenței peisajului la mișcarea indivizilor, utilizând corecții care să elimine erorile datorate informațiilor din setul de date GIS (McRae et al. 2008). De asemenea, aceste modele pot genera predicții și se pot testa amenințări viitoare, utilizând scenarii precum: dezvoltarea infrastructurii de transport, dezvoltarea orașelor, modificarea climatului, fragmentarea habitatelor etc. (Murphy et al. 2008).

Barierele naturale (râuri) sau artificiale (autostrăzi, localități etc.) împiedică dispersia ursului brun, acestea resimțindu-se adesea în reducerea fluxului de gene (Kendall et al. 2009; Kopaz et al. 2011). Hărțile privind predicția fluxului de gene reprezintă cea mai precisă metodă în fundamentarea măsurilor de mitigare (poduri verzi, viaducte, tunele, panouri de protecție) a impactului factorului antropic asupra speciilor, iar autoritățile responsabile cu dezvoltarea infrastructurii de transport trebuie să realizeze proiectele pe această bază (DeYoung și Honeycutt 2005; Geffen et al. 2007; Schwartz et al. 2007; Balkenhol et al. 2009) și după ce modelele sunt validate în teren. De asemenea, în vederea asigurării conectivității și a menținerii diversității genetice, se impune adoptarea măsurilor de mitigare în zonele vulnerabile, unde apar întreruperi ale fluxului de gene (Cushman et al. 2006; Pelletier et al. 2014).

CAPITOLUL 2. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRILOR

Până în prezent, puține studii genetice au fost desfășurate pe populația de urs din România, acestea fiind realizate în totalitate în afara țării, iar eșantionajul nu a asigurat acoperirea corespunzătoare a arealului speciei și rezoluția datelor obținute. Această teză de doctorat reprezintă prima inițiativă care își propune realizarea un studiu genetic pe urs într-un laborator din țara noastră, care să ducă la constituirea unei baze de date relevante. Astfel, s-a reușit genotiparea celui mai mare număr de indivizi din populația de urs din România (320), utilizându-se 17 markeri genetici polimorfici caracteristici diferitelor zone ale genomului speciei.

De asemenea, modul în care s-au prelucrat datele obținute în această cercetare reprezintă o premieră, deoarece în afara determinării și analizei parametrilor genetici specifici s-a efectuat prima analiză de tip landscape genetics aplicată în țara noastră. Acest tip de analiză este de mare actualitate, fiind cea mai complexă modalitate de prelucrare a datelor genetice și este utilizată pe scară largă la nivel mondial, oferind informații de mare utilitate în obținerea datelor necesare pentru managementul populației de urs.

Teza de doctorat are ca principal scop determinarea diversitatea genetică intra/interpopulaționale și stabilirea setului de măsuri necesare pentru conservarea speciei. Totodată, s-a urmărit determinarea modelelor de conectivitate în vederea atenuării impactului dezvoltării infrastructurii asupra populației de urs brun din România.

Pentru a atinge acest scop s-au definit următoarele obiective ale cercetării:

1. Evaluarea diversității genetice a ursului brun din Carpații românești cu ajutorul markerilor ADN de tipul secvențelor simple repetitive (SSR);
2. Determinarea modelelor de conectivitate și a influenței factorilor naturali și antropici asupra fluxului de gene (eng. landscape genetics), urmărind fundamentarea genetică a managementului populației de urs;
3. Stabilirea setului de măsuri necesare pentru atenuarea impactului infrastructurii și pentru conservarea speciei la nivel național.

CAPITOLUL 3. LOCALIZAREA STUDIULUI, MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

3.1. Localizarea studiului

Prezentul studiu este localizat la nivelul național, de-a lungul lanțului carpatic, acoperind o suprafață de aproximativ 69 de mii km² (Ionescu 1999), suprapunându-se peste distribuția ursului brun. Specia este răspândită în regiunile biogeografice alpină și continentală, fiind prezentă majoritar în zona muntoasă (93%), în vreme ce doar 7 procente dintre indivizi sunt concentrați în zona deluroasă (Ionescu 1999).

În prezent, populația de urs din țara noastră este alcătuită din aproximativ 6.000 de indivizi (MMSM 2012), reprezentând 35-40% din efectivul Europei localizat la vest de Rusia. Anual, în România, în baza unui studiu care cuprinde pagubele produse de urși raportate de către gestionarii fondurilor de vânătoare și corelarea densităților locale cu efectivele optime, se determină nivelul maxim de intervenție și se extrag prin vânătoare aproximativ 300 de indivizi.

Pentru realizarea acestui studiu s-au colectat 320 de probe biologice provenite de la exemplarele de urs extrase prin vânătoare, răspândite la nivel național (figura 5). Colectarea probelor s-a produs prin intermediul derogărilor aferente nivelului maxim de intervenție (2278/15.09.2011, 3456/2012 și 2187/20.09.2013), de către personalul gestionarilor fondurilor de vânătoare și s-au transmis la autoritatea științifică CITES – Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare în Silvicultură „Marin Drăcea”(INCDS) și la Facultatea de Silvicultură și Exploatare Forestiere din Brașov. S-a constituit astfel o bancă de probe genetice la nivel național.

3.2. Materialul de cercetare

S-au prelevat părți din ficat sau mușchi (Figura 6) de la exemplarele recoltate în cadrul nivelului maxim de intervenție în perioada 2011-2014. Probele biologice au fost introduse în eprubete de 15 ml, umplute în prealabil cu etanol. Pe acestea au fost lipite etichete pe care au fost notate următoarele: specia, locul și sexul (Figura 6), după care s-au depozitat în frigider. Adicional s-a realizat izolarea ADN-ului și din fire de păr, piele și oase, utilizând diferite metode de extracție, pentru a determina aplicabilitatea acestora în funcție de tipul de probă (Cotovelea et al. 2013).

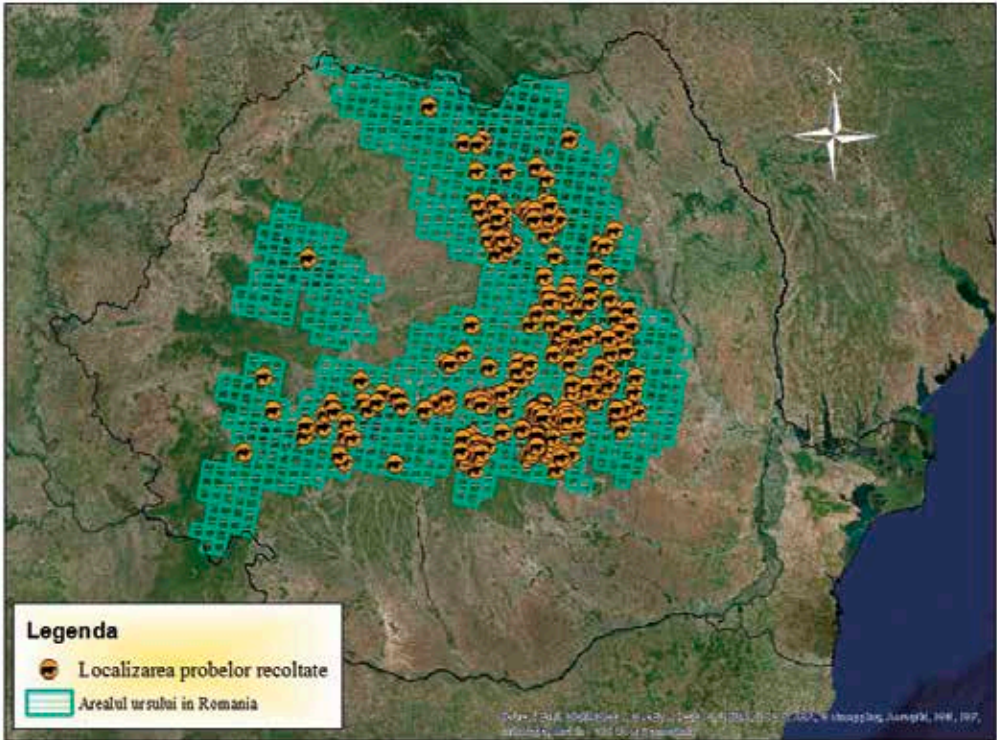


Fig. 5. Localizarea GPS probelor recoltate
GPS locations of brown bear samples



Fig. 6. Recoltarea țesutului proaspăt și modul de păstrare în eprubete
Fresh tissue sampling and storage

Firele de păr (Figura 7) s-au recoltat de la exemplarele de urs capturate spre a fi relocate (INCDS Brașov) din zonele Brașov și Prahova. Acestea s-au introdus în eprubete de 9 ml, după care s-au păstrat în frigider.



Fig. 7. Recoltarea fire de păr de urs cu rădăcină
Hairs (with root) sampling

În alte cazuri, materialul pentru analiză a constat în părți de piele și oase (Figura 8). După prelevare, acestea s-au depozitat în freezer (-60°C), în pungi sigilate, până la realizarea extracției ADN-ului.



Fig. 8. Parte din os și de blană prelevate de la un pui de urs găsit mort
Bone and skin collected from a dead bear cub

3.3. Metodele de cercetare

Metoda de cercetare a constat, în prima etapă, în efectuarea analizelor de laborator pentru obținerea genotipurilor și a secvențelor de ADN. Analizele de ADN nuclear s-au efectuat utilizând markeri genetici identificați în studiile anterioare desfășurate pe populația de urs din România și pe cea la nivel european (Zachos et al. 2008; Paule et al. 2009; Straka et al. 2012), pentru a putea compara datele obținute și pentru a putea adera la cadrul comun de cercetare al ursului brun (Karamanlidis et al. 2009).

Mai departe, a urmat crearea bazei de date rezultată din analizele de laborator și prelucrarea acesteia. Inițial s-a analizat diversitatea genetică a populației de

urs, s-au determinat parametrii genetici și s-a testat structura populațională.

Ce-a de-a doua etapă a constat în analiza fluxului de gene și în determinarea influenței factorilor naturali și/sau antropici asupra acestuia.

3.3.1. Metodologia de lucru pentru analizele genetice

Pentru a obține ADN din diferite tipuri de probe (țesut, fire de păr, piele, oase) s-au folosit 4 protocoale de izolare, aplicate în funcție de materialul din care s-a dorit extracția. Diferitele metode de extracție s-au aplicat pentru a valida aplicabilitatea acestora în funcție de tipul de material utilizat (Cotovelea et al. 2013).

3.3.1.1. Izolarea ADN-ului

3.3.1.1.1. Protocolul CTAB

Acest protocol a fost dezvoltat de către Doyle și Doyle (1987) și a fost modificat pentru a fi utilizat la izolarea ADN-ului din țesut proaspăt prelevat de la animale de către Oliveira et al. (2007). În laboratorul de Genetică Forestieră al Facultății de Silvicultură și Exploatarea Forestiere din Brașov, protocolul menționat a fost aplicat pentru prima dată în cadrul cercetărilor din această teză de doctorat, ulterior fiind adaptat și utilizat și în alte studii.

Pașii care s-au urmat când s-a utilizat acest protocol au fost:

1. Pregătirea probelor pentru izolare: s-a tăiat un fragment de 2-5 mm din țesut (Figura 9) și s-a introdus în tuburi de 2 ml;
2. S-au adăugat 500 μ l Lysis Buffer + 10 μ l Proteinase K peste fragmentele de țesut;
3. S-au ținut probele peste noapte în Thermomixer la temperatura de 56°C;
4. S-au adăugat 500 μ l 2xCTAB Extraction Buffer (a doua zi);
5. S-au ținut probele în Thermomixer pentru 30 de minute la 65°C și 550 rpm;
6. S-au adăugat 200 μ l Wet Chlorophorm și s-au mixat probele;
7. S-au centrifugat probele pentru 3 minute la viteză maximă;
8. S-a extras supernatantul și s-a introdus în tuburi noi de 2 ml;
9. S-au adăugat 600 μ l de Izopropanol (-20°C) și s-au mixat probele;
10. S-au ținut probele la congelator timp de 30 de minute;
11. S-au centrifugat probele timp de 3 minute la viteză maximă;
12. S-a aruncat lichidul din tuburi și s-au lăsat tuburile să se scurgă;
13. S-a adăugat 1 ml Wash buffer;
14. S-au ținut probele în frigider timp de 1 oră;
15. S-au centrifugat probele timp de 3 minute la viteză maximă;

16. S-a aruncat lichidul și s-au lăsat tuburile să se scurgă;
17. S-au ținut probele în Thermomixer pentru 20 de minute la 65 °C;
18. S-a adăugat 100 μl TE.

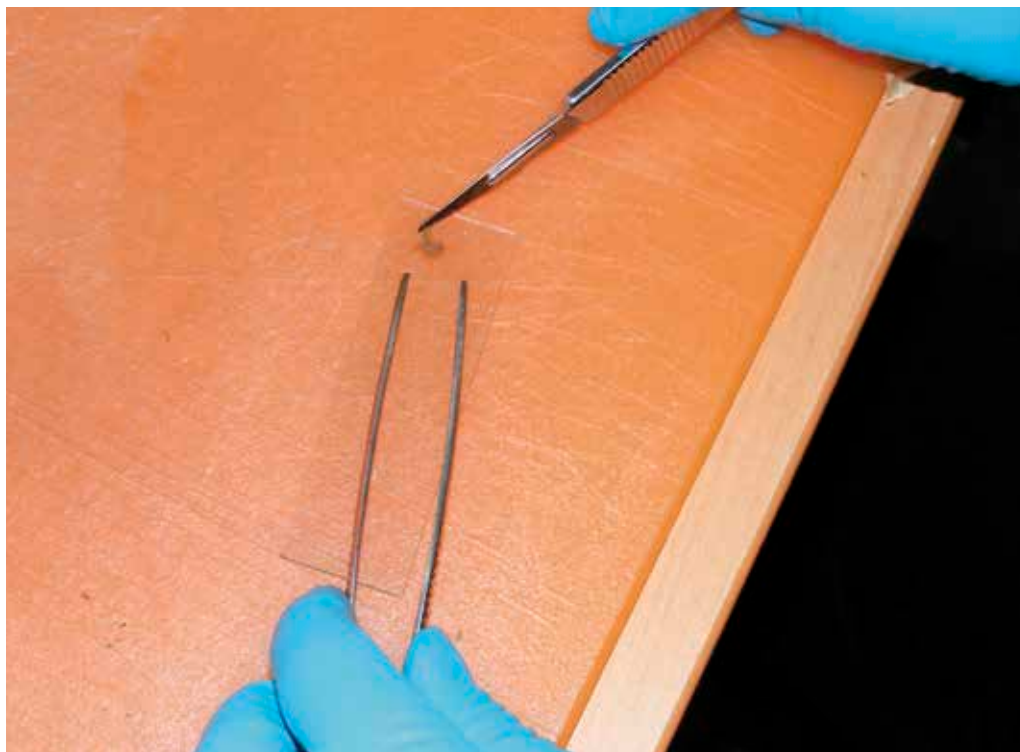


Fig. 9. Fragment de țesut din care s-a izolat ADN-ul
Tissue fragment from which DNA has been extracted

Probele de ADN obținute s-au depozitat în frigider, dacă s-au utilizat în următoarele zile, respectiv în congelator, dacă s-au procesat mai târziu decât în acest interval.

3.3.1.1.2. Protocolul Chelex

Acest protocol a fost dezvoltat de către Walsh et al. (1991) și s-a folosit pentru extracția ADN-ului din țesut proaspăt, fire de păr și părți de piele. Este o metodă foarte rapidă de izolare, însă a prezentat inconveniente legate de cantitatea mică, respectiv de impuritatea ridicată a ADN-ului obținut. Protocolul menționat a fost aplicat pentru prima dată în laboratorul de Genetică Forestieră al Facultății de Silvicultură și Exploatare Forestiere în cadrul cercetărilor din

această teză de doctorat.

Pașii urmați în acest protocol au presupus:

1. Pregătirea soluției Chelex 10% pentru izolare;
2. Adăugarea a 100 μl Chelex peste fiecare probă;
3. Menținerea probelor în Thermomixer la 100 °C timp de 20 de minute;
4. Centrifugarea probelor pentru 3 minute la viteză maximă;
5. Extragerea supernatantului în tuburi noi.

ADN-ul a fost depozitat în frigider, dacă s-a utilizat în următoarele zile, respectiv în congelator, dacă s-a utilizat mai târziu decât în acest interval.

3.3.1.1.3. Kitul Macherey – Nagel

Acest kit s-a folosit pentru izolarea ADN-ului din fire de păr, piele, oase, cartilaje ori sânge, necesitând următorii pași:

1. S-au pregătit probele și s-au introdus în tuburi de 2 ml;
2. S-a adăugat peste probe 180μl Buffer T1+25 μl Proteinase K și s-au mixat;
3. S-au lăsat probele peste noapte în Thermomixer la 56°C;
4. S-a adăugat 200μl Buffer B3;
5. S-au ținut probele în Thermomixer timp de 10 minute la 70°C;
6. S-a adăugat 210μl Ethanol și s-au mixat;
7. S-au pus 1 tub NucleoSpin®Tissue Column și s-au încărcat probele;
8. S-au centrifugat probele pentru un minut la 11 mii de rotații;
9. S-a aruncat lichidul din Collection Tube;
10. S-a adăugat 500μl Buffer BW în tubul NucleoSpin®Tissue Column;
11. S-au centrifugat probele pentru un minut la 11 mii rotații;
12. S-a aruncat lichidul din Collection Tube;
13. S-a adăugat 600μl Buffer B5 în tubul NucleoSpin®Tissue Column;
14. S-au centrifugat probele pentru 1 minut la 11 mii de rotații;
15. S-a aruncat lichidul din Collection Tube;
16. S-au centrifugat probele pentru 1 minut la 11 mii de rotații;
17. S-au pus tuburi noi NucleoSpin®Tissue Column;
18. S-a adăugat 100μl Buffer BE;
19. S-au centrifugat probele pentru un minut la 11 mii de rotații.

S-a păstrat ADN-ul izolat în frigider, dacă s-a utilizat în următoarele zile și în congelator la temperaturi scăzute (-60°C), dacă s-a utilizat mai târziu decât în acest interval. Acest kit pentru izolarea ADN-ului poate fi folosit și pentru extracții din alte tipuri de materiale: secreții bucale, dinți, materiale foarte vechi (cranii vechi, blănuri etc) (Macherey – Nagel 2010).

3.3.1.1.4. Cartușele pentru izolare Maxwell® 16

Pentru extragerea ADN-ului s-a utilizat, de asemenea, extractorul Maxwell®16 împreună cu cartușele pentru izolare Maxwell®16 din țesut (Promega).

Pașii urmați au presupus:

1. Pregătirea probelor (vezi protocolul CTAB);
2. Pregătirea cartușului pentru izolare: introducerea probei în camera de lisare;
3. Introducerea pistonului în ultima cameră;
4. Pornirea aparatului Maxwell® 16 (Figura 10);
5. Setarea parametrilor protocolului;
6. Așezarea cartușelor de izolare pe placa aparatului;
7. Adăugarea a 300μl Elution Buffer în tuburile pentru eluție;
8. Selectarea opțiunii RUN;
9. Așteptare timp de 47 de minute;
10. Pipetare lichid din tuburile pentru eluție în tuburi noi de 2 ml.

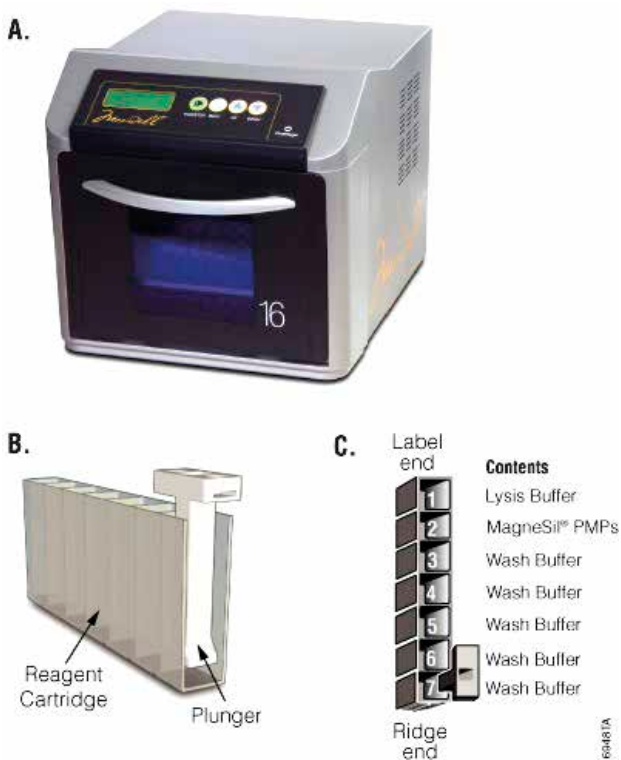


Fig. 10. Aparatul Maxwell și cartușul de izolare a ADN-ului
Maxwell extractor and DNA extraction cartridge

Aparatul Maxwell® 16 poate fi folosit pentru izolarea ADN-ului din diferite tipuri de materiale: salivă, culturi de celule, sânge, fecale etc. Pentru aceasta sunt necesare diferite tipuri de cartușe Maxwell®16 specifice materialului din care urmează să se realizeze extracția (Promega 2011).

3.3.1.2. Testarea calității și cantității ADN-ului

Pentru determinarea prezenței și a calității ADN-ului, s-a realizat testarea pe gel de agaroză (1,5%). Rețeta pentru acest gel a constat în 1,5 g Agaroză + 100 ml TAE, obținându-se astfel un gel mare (60 de orificii pentru introducerea probelor).

Mai departe s-au preparat probele pentru introducerea în gel, prin amestecarea a 2 μ l Dye cu 5 μ l ADN. Probele rezultate au fost încărcate în gel împreună cu o scară *Fermentas 1Kb DNA Ladder (250-10000 bp)* necesară pentru realizarea citirilor.

În ceea ce privește testarea ADN-ului, etapele au fost următoarele:

1. Prepararea probelor;
2. Introducerea în gel (Figura 11);
3. Electroforeza;
4. Colorarea gelurilor (Figura 11);
5. Analiza gelului utilizând aparatul UVP (Figura 12).

În figura 13 se prezintă rezultatul testării prezenței ADN-ului pe gel de agaroză. S-a identificat mai întâi prezența ADN-ului sub formă de benzi, după care s-a determinat calitatea acestuia.



Fig. 11. Încărcarea probelor (stânga) și etapa colorării gelului (dreapta)
Loading samples (left) and gel staining (right)



Fig. 12. Aparatul UVP pentru analiza gelului (stânga) și fotografia gelului (dreapta)
UVP device for gel analysis (left) and the gel picture (right)

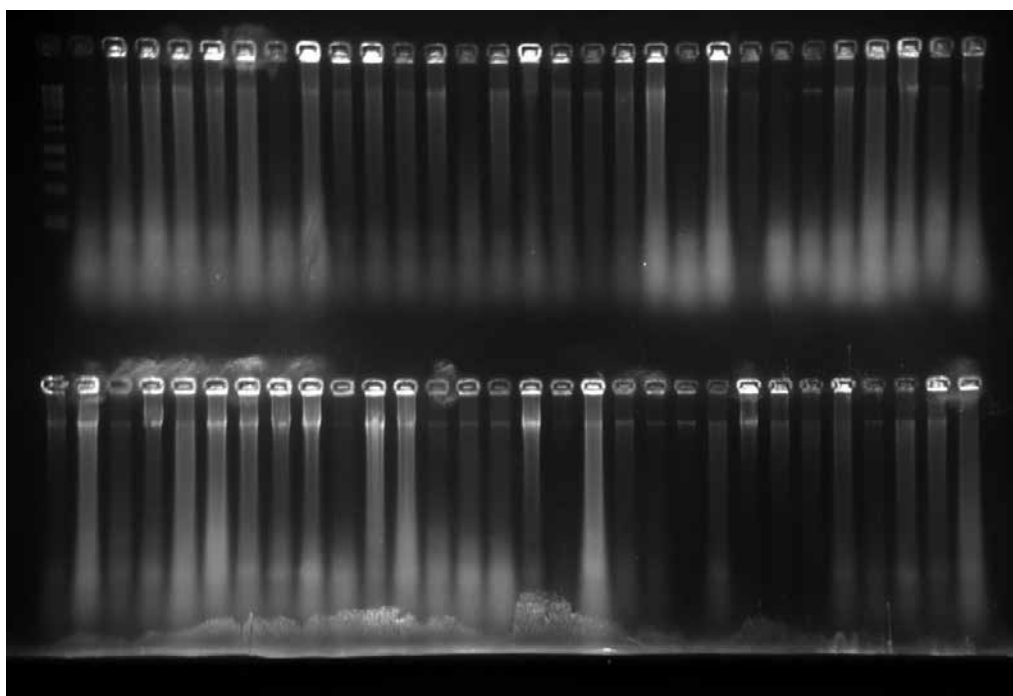


Fig. 13. Testarea prezenței ADN-ului pe gel de agaroză
Testing DNA presence using agarose gel

3.3.1.3. Măsurarea cantității de ADN utilizând spectrofotometrul NanoDrop8000

ADN-ul a fost măsurat cu spectrofotometrul NanoDrop8000, pentru a determina reușita la extracție, dar și raportul 260/280, a cărui valoare indică

puritatea acestuia. S-a introdus pentru fiecare probă 1 μl de ADN, după care s-au generat rezultatele pentru fiecare serie de 8 probe (Figura 14).

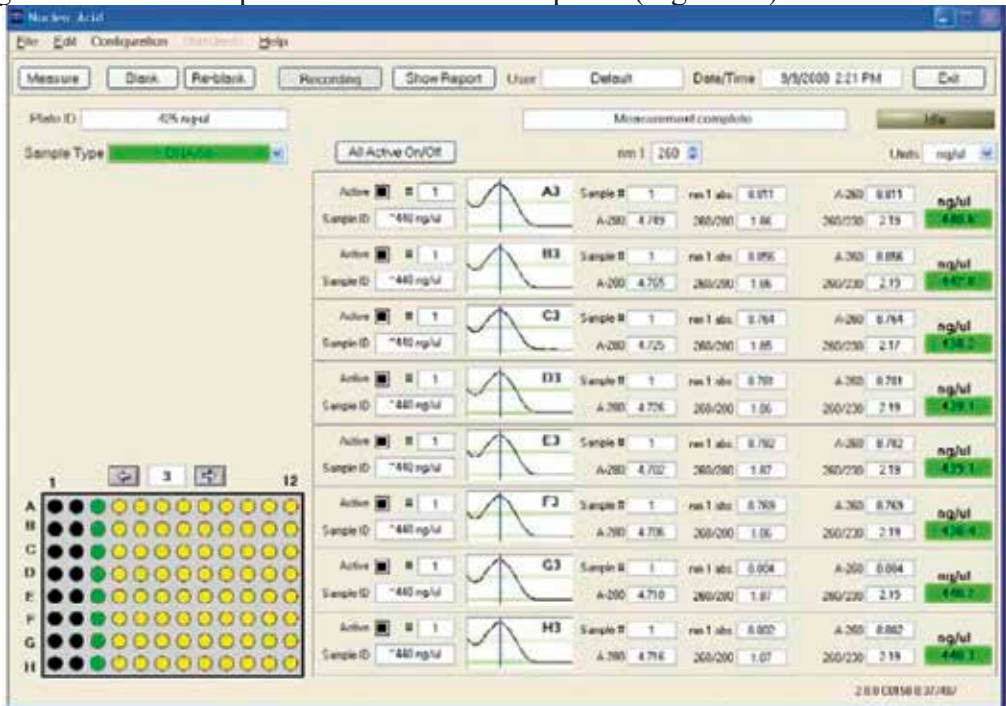


Fig. 14. Rezultatele măsurătorilor ADN-ului cu spectrofotometrul NanoDrop8000
Results from DNA measurements using NanoDrop8000 spectrophotometer

Valorile obținute s-au exportat într-un fișier text și s-au analizat ulterior. Atunci când raportul 260/280 a înregistrat valori apropiate de 2, s-au aplicat diluții mai mari ale ADN-ului (1:20; 1:30), în caz contrar, s-au aplicat diluții mai mici (1:10).

3.3.1.4. Analizele de microsateliți

Pentru amplificarea ADN-ului izolat de la specia urs brun s-au folosit 17 markeri, utilizați și în alte studii desfășurate atât la nivel European, cât și mondial (Tabelul 3) și care se regăsesc în cadrul comun privind cercetarea genetică a speciei (Karamanlidis et al. 2009).

Volumul unei reacții a fost de 15 μl , din care 7.5 μl QIAGEN PCR Master Mix, 1-3 μl primeri forward și reverse, 1-1.5 μl QSolution, 1-3 μl RNase water. Reacția a avut loc în thermocycler (Figura 15), care a rulat după un program stabilit anterior. Protocolul PCR a presupus denaturarea inițială a ADN-ului la 95°C timp de 15 minute, urmată de 35 de cicluri, fiecare având o durată de

3 minute cu următoarele caracteristici: 95°C timp de 30 de secunde; 60-65°C (în funcție de multiplex) timp de 1 minut și jumătate; 72°C timp de 1 minut și jumătate. Ultimul pas a fost cel de elongare, asigurându-se temperatura de 60°C pe o durată de 30 de minute. S-a evitat degradarea ADN-ului după terminarea reacției, prin asigurarea temperaturii de 4°C pe o perioadă nelimitată.

Tabel 3. Caracterizarea markerilor utilizați
Microsatellites characteristics

Nr. crt	Marker	Vopsea fluorescentă	Perechi de baze (bp)	Sursa
1	G10C	CY5	89-109	Paetkau et al. 1998
2	G10D	CY5.5	168-182	Paetkau et al. 1998
3	G10P	D2	147-175	Taberlet et al. 1997
4	G10X	CY5.5	132-154	Taberlet et al. 1997; Paetkau et al. 1998
5	Mu10	CY5.5	112-126	Bellemain și Taberlet 2004
6	Mu15	CY5	117-131	Taberlet et al. 1997
7	Mu50	CY5.5	79-103	Bellemain și Taberlet 2004
8	Mu59	D2	97-121	Bellemain și Taberlet 2004
9	SRY	D2	75	Bellemain și Taberlet 2004
10	G10B	CY5	130-154	Paetkau et al. 1995
11	G10L	CY5.5	153-163	Paetkau et al. 1995
12	G1A	CY5	180-190	Karamanlidis et al. 2009
13	Mu51	CY5.5	115-127	Karamanlidis et al. 2009
14	Mu09	CY5.5	174-206	Taberlet et al. 1997
15	Mu61	CY5	141-153	Karamanlidis et al. 2009
16	G10J	CY5	78-97	Paetkau și Strobeck 1994
17	G10M	CY5.5	204-218	Karamanlidis et al. 2009

La gruparea markerilor în multiplexe (Figura 16) s-a ținut cont de compatibilitatea acestora, respectiv de temperatura de legare T°C (eng. annealing), de lungimea perechilor de baze (eng. base pairs) și de culoarea fluorescentă (eng. dye) cu care a fost marcat fiecare. Primerii „forward” au fost marcați cu substanță fluorescentă (CY5, CY5.5, D2), fapt care a permis efectuarea unei electroforeze capilare de mare precizie cu ajutorul secvențiatorului Beckman Coulter GeXP. După amplificarea produselor PCR s-au vizualizat markerii sub formă de semnale fluorescente. Electroferogramele rezultate au fost apoi analizate cu ajutorul software-ului GenomeLab™ Software (Beckman Coulter).

Multiplexul a fost considerat aplicabil atunci când toți markerii s-au putut citi de pe cel puțin 5 electroferograme.



Fig. 15. Mașinile termocycler utilizate în analizele genetice
PCR machines used for genetic analyses

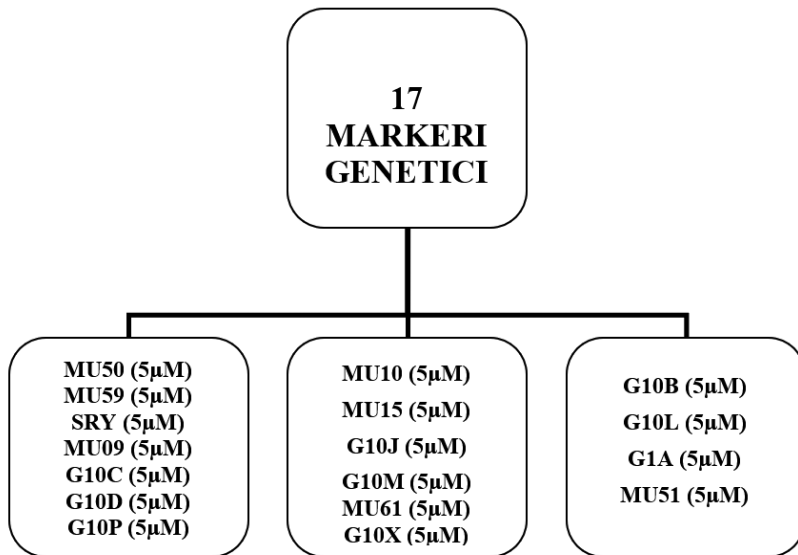


Fig. 16. Multiplexele aplicate pentru amplificarea ADN-ului
Multiplexes used for DNA amplification

În vederea genotipării indivizilor, s-a pregătit placa (96 godeuri) pentru electroforeza capilară, în care s-au adăugat: 2 μl produs PCR diluat (1:40), 37,6 μl Sample Loading Solution (SLS) și 0,4 μl Size Standard (SZ400), pentru fiecare probă din godeu. S-a efectuat electroforeza capilară utilizând metoda FRAG-3 pe secvențiatorul Beckman Coulter (Figura 17). Setarea secvențiatorului pentru analiză a presupus următorii pași:

- denaturare: temperatură de 90°C cu o durată de 120 de secunde;
- injecție: voltaj de 2000V cu o durată de 30 de secunde;
- separare: voltaj de 6000V cu o durată de 35 de minute.



Fig. 17. Secvențiatorul Beckman Coulter (stânga) și citirea datelor de pe electroforegrame (dreapta)
Beckman Coulter sequencer (left) and electropherograms reading (right)

Multiplexul 1 alcătuit din markerii MU50 (5 μ M), MU59 (5 μ M), SRY (5 μ M), MU09 (5 μ M), G10C (5 μ M), G10D (5 μ M), G10P (5 μ M) s-a vizualizat pe secvențiator sub forma electroferogramelor așa cum este prezentat în Figura 18.

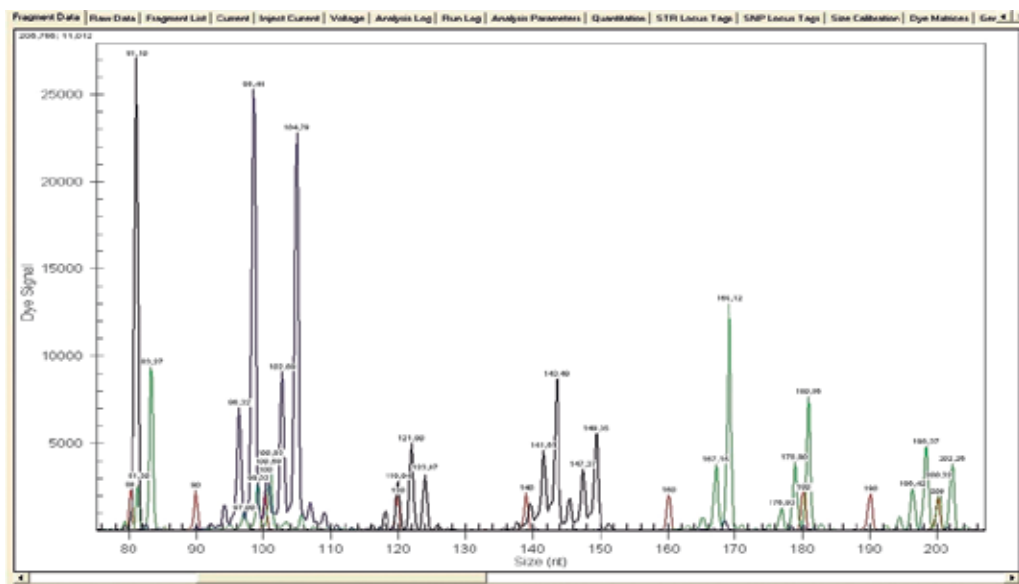


Fig. 18. Electroferogramă cu reprezentarea markerilor genetici în multiplexului 1
Electropherogram with genetic markers from multiplex 1

Multiplexul 2 alcătuit din markerii MU10 (5 μ M), MU15 (5 μ M), G10J (5 μ M), G10M (5 μ M), MU61 (5 μ M), G10X (5 μ M) s-a vizualizat pe secvențiator sub forma electroferogramelor, așa cum este prezentat în Figura 19.

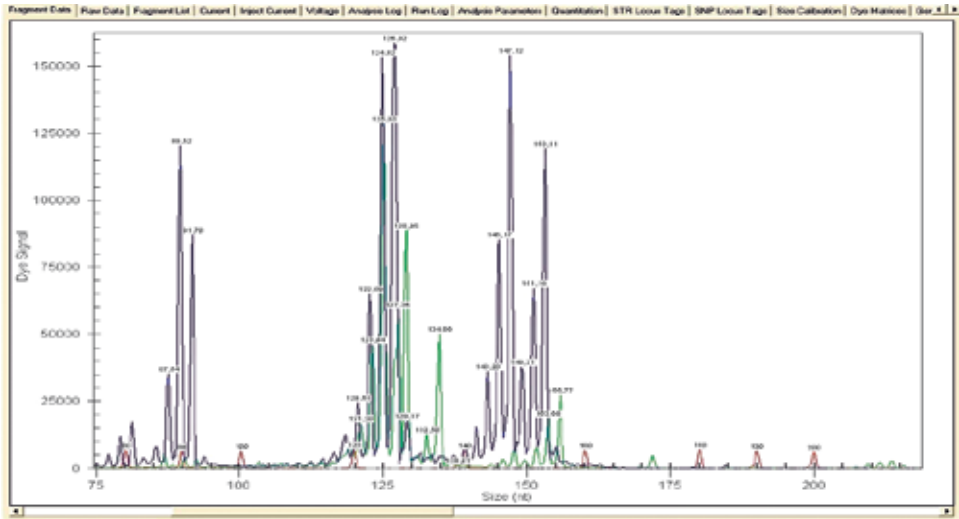


Fig. 19. Electroferogramă cu reprezentarea markerilor genetici în multiplexului 2
Electropherogram with genetic markers from multiplex 2

Multiplexul 3 alcătuit din markerii G10B (5 μ M), G10L (5 μ M), G1A (5 μ M), MU51 (5 μ M) s-a vizualizat pe secvențiator sub forma electroferogramelor, așa cum este prezentat în Figura 20.

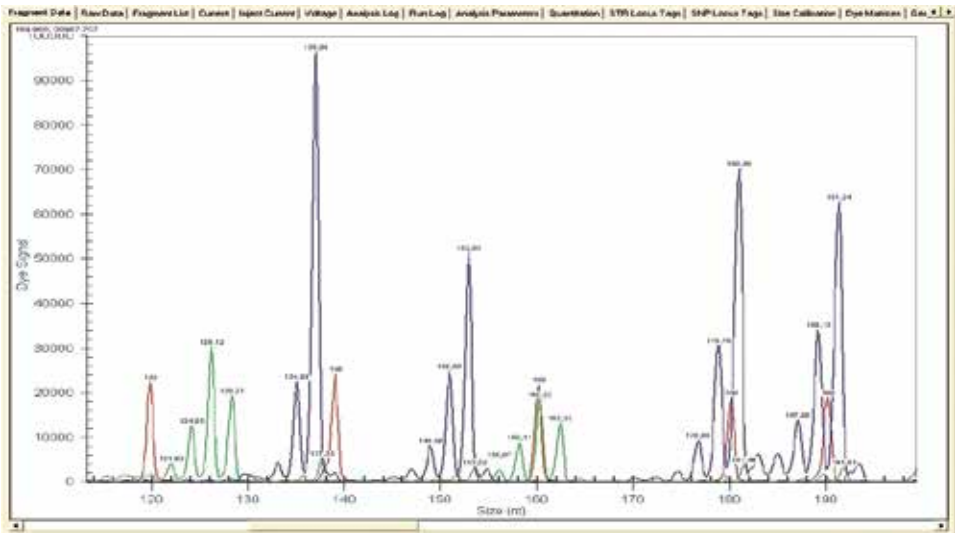


Fig. 20. Electroferogramă cu reprezentarea markerilor genetici în multiplexului 3
Electropherogram with genetic markers from multiplex 3

3.4. Analiza datelor

După ce s-au citit de pe electroferograme valorile specifice perechilor de baze ce se regăsesc sub formă de semnale fluorescente pentru fiecare marker, s-au introdus datele în Microsoft Excel. În funcție de soft-urile cu care s-a lucrat mai departe s-a exportat baza de date astfel încât să se poată utiliza ca input.

3.4.1. Evaluarea parametrilor și a diversității genetice

Pentru început, s-a verificat baza de date pentru fiecare marker, în vederea detectării prezenței alelelor nule, utilizând soft-ul MICROCHECKER (Oosterhout et al. 2004). Heterozigoția observată (H_o) și heterozigoția așteptată (H_e) au fost determinate pentru fiecare locus utilizând soft-ul GENETIX 4.05 (Belkhir et al. 1996-2004). Utilizând soft-ul GenAlex 6.4 (Peakall și Smouse 2006) s-a determinat numărul mediu de alele (N_a), numărul efectiv de alele (N_e), indicele de diferențiere genetică (F_{ST}) și s-a efectuat testul AMOVA. Pentru testarea echilibrului Hardy-Weinberg s-a utilizat soft-ul GENEPOP v 4.2.2 (Rousset 2008).

Pentru determinarea structurii populaționale, respectiv a grupării indivizilor, s-a folosit un model Bayesian de analiză implementat în software-ul STRUCTURE v 2.3.4 (Pritchard et al. 2000; Falush et al. 2003; 2007; Hubisz et al. 2009). Modelul stohastic a fost setat pentru 1 milion de simulări, precedate de 100 de mii de repetiții cu opțiunea *Admixture* (fără *Loc Prior*) și corelarea frecvențelor alelelor. Pentru a asigura determinarea exactă a numărului de populații (K) s-au atribuit valori de la 1 la 10, asigurându-se repetarea acestora de 10 ori. Atât probabilitatea posterioară a datelor pentru valoarea dată de K ($Ln Pr(X | K)$), cât și rata de schimbare (ΔK) au fost utilizate pentru a identifica structurarea populației. Pentru verificarea structurii populaționale s-a aplicat și o altă metodă, anume cea bazată pe compararea spațială explicită în software-ul TESS v 2.3 (François et al. 2006; François și Durand 2010). S-a utilizat astfel modelul ierarhic, fără selectarea opțiunii *Admixture*, simulându-se un număr de populații care a variat de la 2 la 10, asigurându-se 10 repetări pentru fiecare K . Modelul a fost setat pentru 100 de mii de simulări, respectiv 50 de mii de repetiții.

3.4.2. Analiza de tip landscape genetics

3.4.2.1. Testarea bazei de date și codarea celulelor raster

Pentru determinarea indivizilor care au structurii genetice asemănătoare s-a utilizat soft-ul ML-Relate (Kalinowski et al. 2006), această analiză fiind suplimentată prin utilizarea KINGROUP (Konovalov et al. 2004), urmărind astfel determinarea probabilității maxime de estimare a gradului de înrudire dintre indivizi. Semnificația statistică a fost evaluată prin intermediul valorilor lui p , utilizând corecția Bonferroni pentru mai multe teste.

Utilizând setul de date generat sub formă de matrice pentru distanța genetică și cea geografică, s-a testat semnificația statistică a modelului privind izolarea prin distanță (eng. isolation-by-distance, *IBD*; Wright 1943). *IBD* admite în prealabil că diferențierea genetică a indivizilor reprezintă un produs al distanței geografice, fără a ține seama de influența factorilor naturali și antropici. Coeficientul izolării prin distanță (*IBD*) a fost calculat utilizând 10 mii de permutări randomizate, folosind opțiunea din cadrul soft-ului GenAlEx v 6.5.

O altă metodă a constat în calcularea corelogramei Mantel (r_M) aplicând 10 mii de permutări aleatorii. Aceasta a fost generată în software-ul R, utilizând pachetele “corrgram” (Friendly 2002) și “vegan” (Oksanen et al. 2014). Criteriul Bonferroni a fost folosit pentru a corecta semnificația modelului.

Utilizând software-ul ArcGIS v 10.2.2 (ESRI 2014) s-au codificat celulele de rezistență pentru desfășurarea fluxului de gene pentru următorii factori naturali: râuri (Anexa 1), habitate forestiere (Anexa 2), gradul de acoperire al pădurii (Anexa 3), pantă (Anexa 4), expoziție (Anexa 4), altitudine (Anexa 4), densitatea indivizilor de urs brun pe fonduri de vânătoare (Anexa 5, INCDS Brașov) și antropici: drumuri (Anexa 6) și localități (Anexa 7).

Hărțile raster pentru expoziție, altitudine și pantă au fost generate din Corine Land Cover (Anexa 4) la o rezoluție de 1 km. Pentru restul parametrilor, hărțile raster au fost puse la dispoziție de INCDS Brașov și s-au utilizat la aceeași rezoluție.

Pentru atribuirea valorilor de rezistență la mișcarea indivizilor fiecărei celule, s-a utilizat soft-ul ArcGIS v 10.2.2 (ESRI 2014), iar convertirea în fișiere ASCII s-a efectuat utilizând software-ul CIRCUITSCAPE v.3.5 (MacRae și Shah 2011). Valorile celulelor raster au variat între 100-1000 și au fost atribuite în funcție de numărul claselor din cadrul fiecărui parametru și corespunzător funcției putere (Tabelul 4). Valoarea 100 s-a atribuit celulelor cu cea mai mică

rezistență la mișcare, în vreme ce valoarea 1000 a reprezentat rezistența maximă. Cifrele menționate au fost utilizate pentru fiecare parametru considerat, pentru a obține astfel valori standardizate. Mai departe s-au generat funcții liniare și funcții putere și s-a simulat relația dintre factorii naturali și antropici și valorile atribuite ale rezistenței. Funcțiile putere aplicate pentru fiecare parametru au fost următoarele: 0.2^x , 0.4^x , 0.6^x , 0.8^x , 2^x , 3^x și 4^x (Figurile 21-26).

Tabel 4. Scenarii de rezistență la mișcarea indivizilor
Resistance scenarios of individual's movement

Parametrul	Scenarii de rezistență la mișcarea indivizilor
Expoziție sud-estică	$1^{clasă}$ – Expoziție sud-estică (100), $2^{clasă}$ – sudică, $3^{clasă}$ – sud-vestică, $4^{clasă}$ – estică, $5^{clasă}$ – vestică, $6^{clasă}$ – nord-vestică, $7^{clasă}$ – nordică, $8^{clasă}$ – nord-estică (1000)
Expoziție sud-estică femele	
Expoziție sud-estică masculi	
Expoziție nord-estică	$1^{clasă}$ – Expoziție nord-estică (100), $2^{clasă}$ – nordică, $3^{clasă}$ – nord-vestică, $4^{clasă}$ – vestică, $5^{clasă}$ – estică, $6^{clasă}$ – sud-vestică, $7^{clasă}$ – sudică, $8^{clasă}$ – sud-estică (1000)
Expoziție nord-estică femele	
Expoziție nord-estică masculi	
Densități urs (nr exemplare/ 10000 ha)	$1^{clasă}$ – 1 la 2 urși (100), $2^{clasă}$ – 3 la 5 urși, $3^{clasă}$ – 6 la 8 urși, $4^{clasă}$ – 9 la 11 urși, $5^{clasă}$ – 12 la 14 urși, $6^{clasă}$ – 15 la 17 urși, $7^{clasă}$ – 18 la 20 urși, $8^{clasă}$ – 22 la 24 urși, $9^{clasă}$ – > 24 urși (1000)
Altitudine	$1^{clasă}$ – 501-1000 m (100), $2^{clasă}$ – 1001-1500 m, $3^{clasă}$ – 1501-2000, $4^{clasă}$ – < 500 m și 2001- 2491m (1000)

Parametrul	Scenarii de rezistență la mișcarea indivizilor
Așezări umane	1 clasă – fără așezări umane (100), 2 clasă – sate, 3 clasă – comune, 4 clasă – orașe mari (1000)
Pantă	1 clasă – 0-15° (100), 2 clasă – 16-30°, 3 clasă – 31-50°, 4 clasă – > 50° (1000)
Râuri	1 clasă – fără râuri (100) 2 clasă – râuri mari și canale (1000)
Drumuri	1 clasă – fără drumuri (100), 2 clasă – drumuri județene, 3 clasă – drumuri naționale, 4 clasă – drumuri Europene și 300 km autostrăzi (1000)
Habitat forestiere vs neforestiere	1 clasă – cu pădure (100) 2 clasă – fără pădure (1000)
Habitat forestiere	1 clasă – păduri de foioase (100), 2 clasă – păduri mixte, 3 clasă – păduri de conifere, 4 clasă – fără pădure (1000)

Funcțiile putere utilizate au fost după cum urmează: 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, liniar, 2, 3 și 4. Scenariile de rezistență sunt prezentate în Tabelul 5.

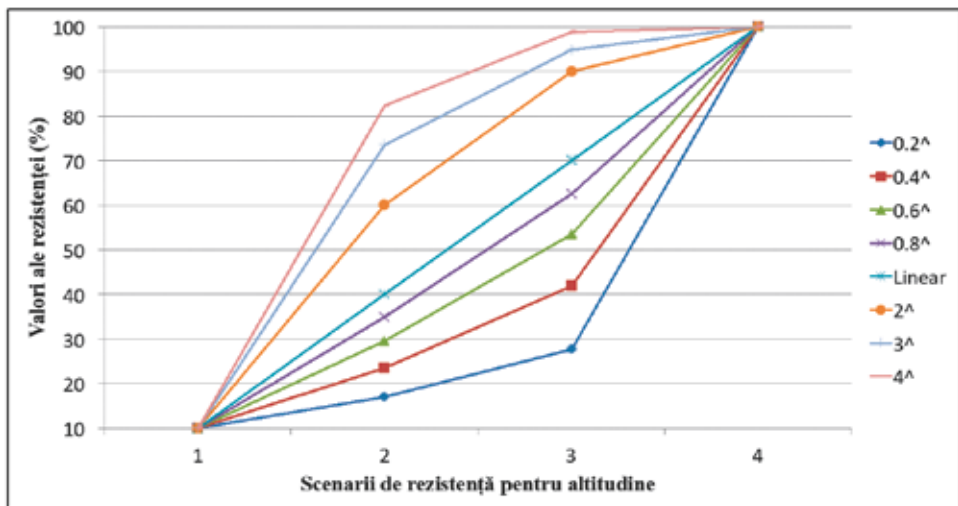


Fig. 21. Funcțiile putere aplicate claselor de rezistență ale altitudinii
Power functions used for elevation reclassification correlated with resistance classes

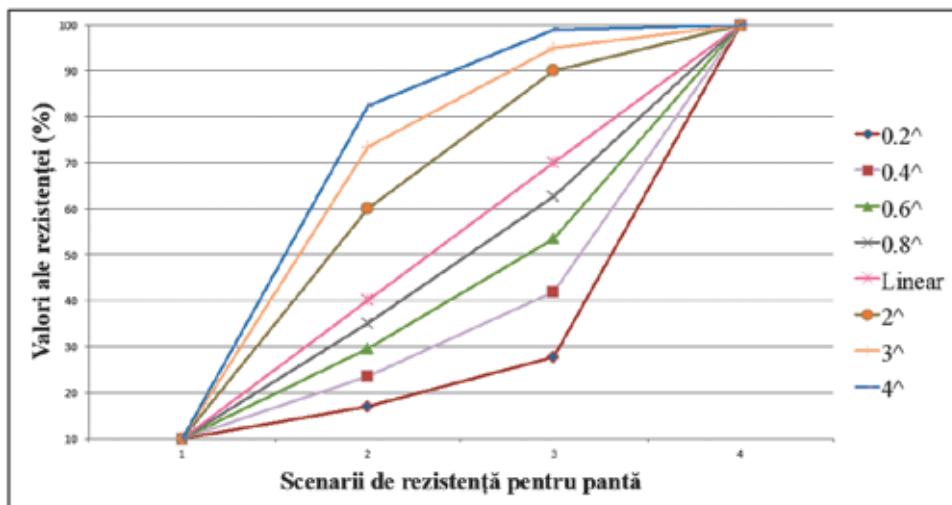


Fig. 22. Funcțiile putere aplicate claselor de rezistență ale pantei
Power functions used for slope reclassification correlated with resistance classes

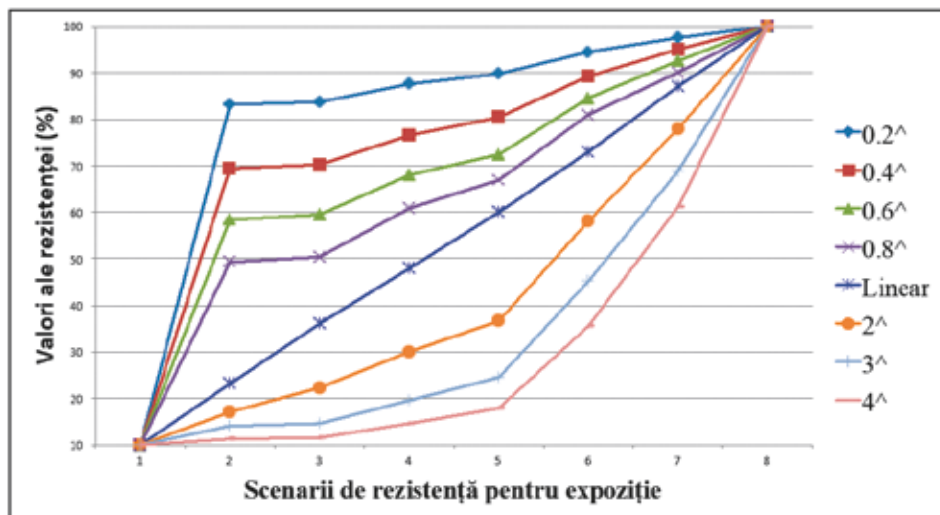


Fig. 23. Funcțiile putere aplicate claselor de rezistență ale expoziției
Power functions used for aspect reclassification correlated with resistance classes

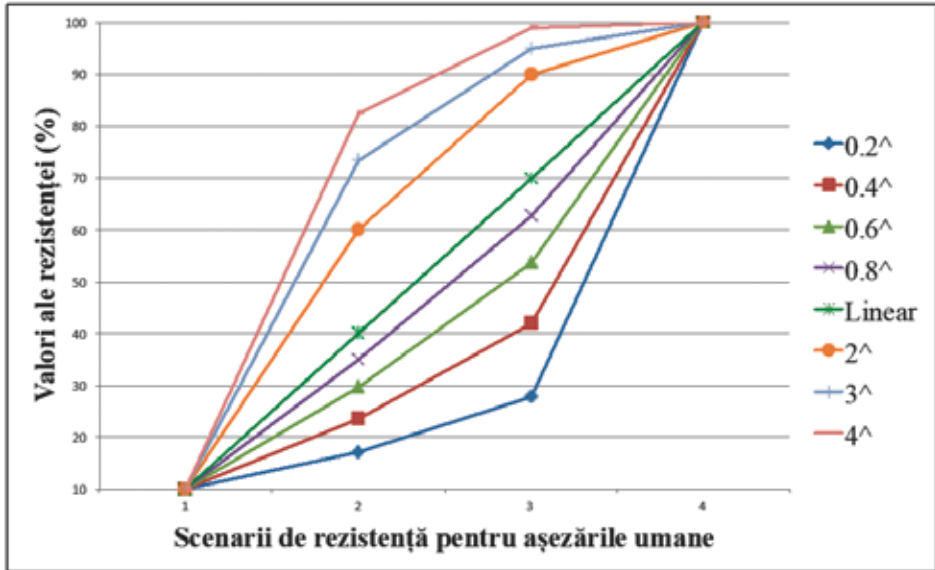


Fig. 24. Funcțiile putere aplicate claselor de rezistență ale așezărilor umane
Power functions used for human settlements reclassification correlated with resistance classes

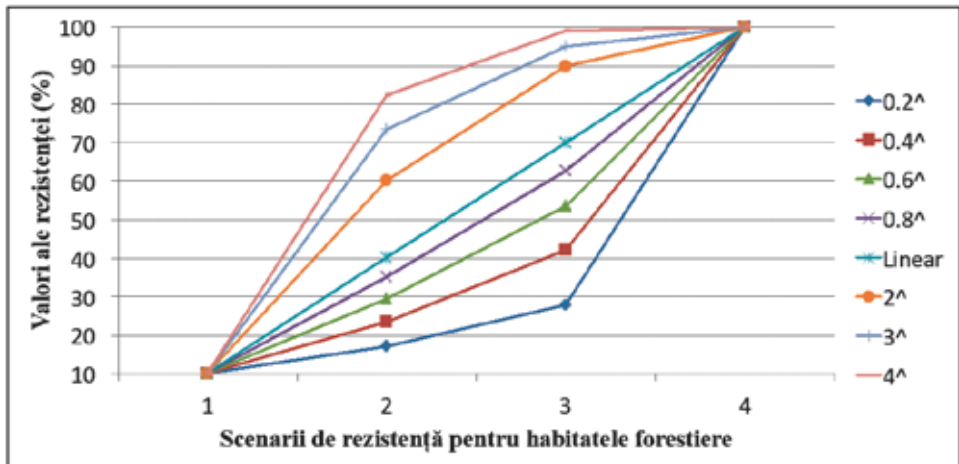


Fig. 25. Funcțiile putere aplicate claselor de rezistență ale habitatelor forestiere
Power functions used for forest habitats reclassification correlated with resistance classes

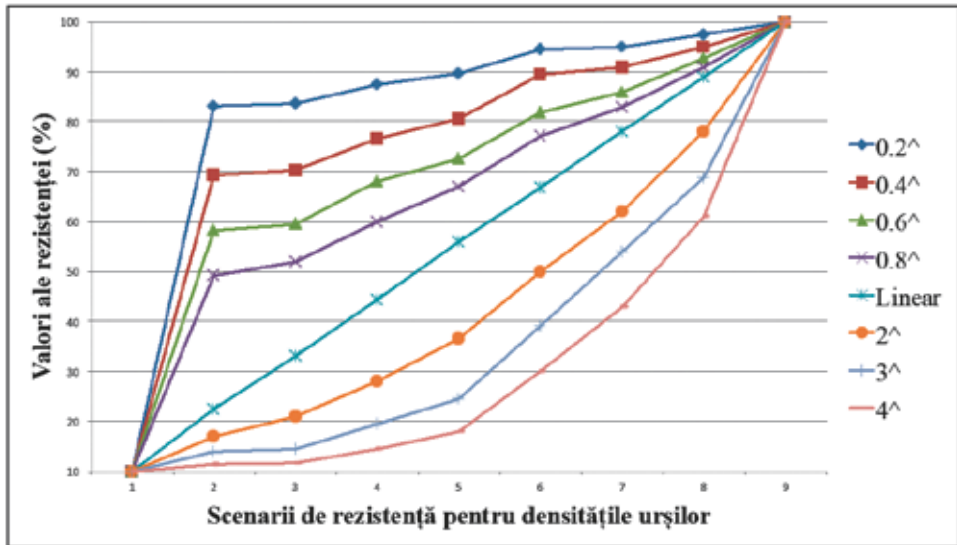


Fig. 26. Funcțiile putere aplicate claselor de rezistență ale densităților urșilor
Power functions used for bear densities reclassification correlated with resistance classes

3.4.2.2. Ipoteze ale modelării rezistenței peisajului la mișcarea indivizilor

Studiile anterioare (Cushman et al. 2006) au arătat că fluxul de gene într-o populație de urs negru este facilitat de gradul de acoperire al pădurii și de altitudinea medie. De asemenea, a rezultat că acesta este redus din cauza terenurilor lipsite de pădure și nu este influențat de către panta terenului. În studiu nu a fost înregistrat efectul drumurilor, autorii argumentând aceasta prin recenta dezvoltare a infrastructurii în zona respectivă (20-40 de ani înaintea efectuării studiului).

Așa cum a fost documentat până în prezent, drumurile cu trafic intens se comportă ca și o barieră, împiedicând mișcarea naturală a indivizilor (McLellan și Shackleton 1988; Waller și Servheen 2005) și având ca și consecință reducerea fluxului de gene (Riley et al. 2006).

În acest studiu am considerat drumurile ca fiind importante în mișcarea indivizilor de urs brun, rezultând în urma analizei hărților GIS disponibile la nivel național patru categorii. Astfel, cea mai mare valoare a rezistenței la mișcarea indivizilor a fost atribuită drumurilor europene și autostrăzilor (~300 de km poziționați în arealul de distribuție al speciei la nivel național). De asemenea, s-au considerat râurile ca influențând desfășurarea fluxului de gene. Valoarea

cea mai mare a rezistenței la mișcarea urșilor a fost atribuită râurilor mari, mai ales din cauza existenței lor în vecinătatea drumurilor, în acest mod înregistrând un efect cumulativ care contribuie la creșterea costului traversării, respectiv la diminuarea mișcării exemplarelor între cele două subhabitate.

Ursul, pentru a-și satisface cerințele nutriționale, se bazează pe plante și animale. În timpul primăverii, exemplarele preferă să consume iarba proaspătă, care pentru prima dată apare pe expoziții sudice (Munro et al. 2006). Locurile situate pe expoziții nordice și la altitudini mai mari se caracterizează printr-o întârziere a apariției vegetației (Munro et al. 2006), determinând deplasarea atât pe expoziție cât și pe altitudine. Fructificația arborilor și fructele de pădure devin o sursă importantă de hrană către toamnă, în acest fel facilitând mișcarea indivizilor în căutarea lor (Munro et al. 2006). Într-o cercetare în care s-au utilizat tehnicile telemetriei (Aryal et al. 2012), întreprinsă în Nepal (Himalaya), habitatele utilizate de către urs au fost poziționate pe expoziția nord-estică (36.8%) și cea sud-estică (28.9%). Expoziția s-a dovedit a fi un predictor important al fluxului de gene pentru diferite specii (Spear și Storfer 2008). De aceea, considerând aceasta și cele anterioare, s-a născut ipoteza conform căreia ursul brun preferă să utilizeze terenurile/habitatele amplasate pe expoziții nord-estice și sud-estice, mișcarea acestora realizându-se în funcție de disponibilitatea hranei. Astfel a rezultat necesitatea de a testa dacă expoziția poate să afecteze un mamifer care în perioada de dispersie se deplasează pe distanțe de sute de kilometri.

Un alt parametru analizat și anume panta, a fost modelat ca funcție liniară, cea mai mare valoare având cea mai mare rezistență la mișcare. Mai departe, în modelul rezistenței la mișcare s-a inclus și altitudinea, acesteia atribuindu-se cea mai mare rezistență la mișcare la altitudini mai mari de 2.000 m și mai mici de 500 m (legate de pădure și relieful accidentat).

Un alt factor natural inclus în analiză a fost gradul de acoperire al pădurii, considerându-se două categorii, dintre care terenurile neacoperite de pădure au preluat cele mai mari valori ale rezistenței. Potrivit Okarma et al. (2000) habitatele preferate de urs în România sunt situate în păduri de foioase, în vreme ce în alte țări, preferința speciei se manifestă pentru pădurile mixte și de conifere. Astfel, s-au considerat pădurile de foioase ca facilitând mișcarea indivizilor, în vreme ce gradul de utilizare a scăzut pentru pădurile mixte și cele de conifere. Rezistența maximă la mișcare a indivizilor a fost atribuită zonelor fără pădure.

Acesta este primul studiu unde se testează ipoteza conform căreia densitatea urșilor influențează fluxul de gene. De cele mai multe ori, densitățile mari în populațiile de urs sunt înregistrate în locurile unde se desfășoară hrănirea artificială (BMP 2006). La densități reduse, aproape toți urși au acces la locurile de hrănire, în vreme ce la densități mari indivizii care sunt dominanți și femelele

cu pui (care sunt amenințate cu uciderea puilor de către ceilalți urși) pot evita aceste zone (Wielgus și Bunnell 2000; Jerina et al. 2013). S-a testat dacă densitățile scăzute facilitează stabilirea teritoriilor juvenilor sau nu (s-au testat ambele variante)

O atenție specială trebuie acordată expansiunii localităților (în special a orașelor) din ultimele două decenii, care au generat fie o întrerupere a mișcării indivizilor, fie nașterea unor conflicte om-urs. În toată țara se înregistrează anual astfel de conflicte, în orașele apropiate de habitatul natural al speciei, acolo unde managementul deficitar al deșeurilor menajere permite indivizilor să obțină hrana foarte ușor, astfel încurajând manifestarea comportamentului oportunist. Majoritatea exemplarelor concentrate în zona depozitării temporare/permanente a deșeurilor menajere sunt fie femele cu pui, fie juvenili, masculii dominanți evitând apropierea de localități și mai ales contactul cu omul. Comportamentul deviat al indivizilor habitați este asimilat foarte ușor de la mamă la pui, mai ales în primul an de viață, permițând acestora să devină remanenți, fapt ce contribuie la crearea unor linii înrudite într-o anumită zonă. Astfel, s-a presupus că prin comportamentul lor înnăscut urșii vor evita traversarea localităților, preferând să utilizeze zone neurbanizate. În cazul de față cea mai mare valoare a rezistenței la mișcare a fost atribuită orașelor mari.

Metodele curente prin care se determină conectivitatea populației sunt foarte importante și trebuie utilizate pentru a facilita mișcarea indivizilor (Spear et al. 2010). Hărțile de rezistență ale peisajului sunt alcătuite din celule raster (codate în funcție de preferințele speciei) și definesc dificultatea cu care indivizii se deplasează între 2 locații oarecare. Valorile privind rezistența la deplasare dintre indivizi au fost generate cu ajutorul soft-ului CIRCUITSCAPE v.3.5 (MacRae și Shah 2011) utilizând următoarele setări: per-cell values; pairwise modelling; focal points and connect to four neighbours (MacRae et al. 2008). S-au generat astfel matrici de rezistență (de tip cumulativ) și hărți de densitate a curentului (intensitatea fluxului de gene) pentru toate funcțiile putere, respectiv pentru toți predictorii fluxului de gene considerați inițial.

3.4.2.3. Analiza statistică a datelor

Pentru determinarea funcției putere care oferă cel mai bun răspuns privind atribuirea valorilor de rezistență la mișcare, s-a aplicat testul *Mantel* și testul *Parțial Mantel*, considerându-se valorile rezultate lui p (*semnificația statistică*), respectiv ale lui r^2 (*coeficientul de determinație*). Testul Parțial Mantel a permis compararea matricii distanțelor geografice dintre indivizi cu matricea rezistenței

la mișcare a acestora excluzând distanțele Euclidiene. Testul *Mantel* și testul *Parțial Mantel* au fost aplicate celor 8 funcții putere, pentru fiecare dintre cei 8 predictorii ai fluxului de gene.

Pentru a evalua relația dintre structura genetică și factorii naturali și/sau antropici, s-a aplicat regresia multiplă pe matrici de distanță (*MRM*), utilizând pachetul *ECODIST* (Goslee și Urban 2013) implementat în software-ul R. Matricile distanțelor geografice și a distanțelor genetice au fost standardizate aplicând următoarea formulă:

$$X_{i,1\sigma} = \frac{X_i - \bar{X}_s}{\sigma_{X,S}}$$

$X_{i,1\sigma}$ – valorile punctului i standardizate la valorile 1σ

X_i – valorile punctului i

\bar{X}_s – media tuturor punctelor

$\sigma_{X,S}$ – deviația standard calculată pentru toate punctele

1 punct = distanța (genetică, geografică, de rezistență în funcție de parametrul analizat)

de la individul 1 la individul 2

MRM a fost utilizată pentru a identifica contribuția fiecărei variabile în cadrul modelelor generale. Pentru a evita apariția erorilor în estimarea parametrilor, s-a testat existența coliniarității prin analiza variației coeficientului de inflație (VIF) pentru fiecare predictor din model, utilizând soft-ul R (Lin et al. 2011). Valorile VIF mai mari decât pragul stabilit ($=20$) au fost considerate ca fiind indicii ale prezenței multicoliniarității. Valorile Akaike Information Criterion (AICc) determinate pentru toate modele competitive generate pe baza valorilor de rezistență, respectiv $\Delta AICc$ și Akaike Weight au fost calculate utilizând pachetul *MuMin* din software-ul R (Burnham și Anderson 2002). Mai departe s-a calculat coeficientul beta (β), pentru a detecta care dintre variabilele independente exercită cel mai însemnat efect asupra variabilelor dependente (Schroeder et al. 1986), utilizând pachetul R *QuantPsyc*.

Modelele candidate au fost selectate pe baza unei ipoteze *a priori* (Bookhout 1996) a variabilelor care explică cel mai bine structura genetică.

CAPITOLUL 4. REZULTATE ȘI DISCUȚII

4.1. Rezultate

4.1.1. Analiza de tip landscape genetics

În vreme ce ereditatea se caracterizează prin transmiterea caracterelor de la părinți la urmași, diversitatea genetică asigură desfășurarea procesului evolutiv, reprezentând totodată proprietatea ființelor vii de a se transforma sub influența mediului, respectiv a factorilor externi/interni, și de a se deosebi unele de altele (Ryder 1986; Curtu și Sofletea 2008; Bertorelle et al. 2009).

4.1.1.1. Testări privind diversitatea genetică

Pentru evaluarea variației genetice a populației de urs din România s-au introdus inițial în analiză toți indivizii genotipați cu cei 17 markeri genetici prezentați în capitolul 3. Dintre aceștia, unul este markerul pentru identificarea sexului indivizilor (SRY).

Primul pas în determinarea diversității genetice a presupus utilizarea programului MICROCHECKER, cu ajutorul căruia s-a identificat existența alelelor nule. Prezența acestora a fost validată pentru următorii markeri genetici: Mu10, Mu15, G10X și Mu09. Aceștia nu au fost excluși din analizele privind determinarea parametrilor genetici, influența lor manifestându-se, mai ales, în analizele de determinare a structurii populaționale.

Astfel, cel mai mare număr de alele a fost detectat pentru markerul MU50 ($N_a=18$), reprezentând cea mai ridicată valoare rezultată pentru populația de urs din România (Tabel 5). Media numărului de alele pentru toți markerii genetici a fost de 12.25, valoare care este mai mare decât cea obținută de Straka et al. 2012 ($N_a=8.46$) și de Zachos et al. 2008 ($N_a=7.8$).

Tabel 5. Parametrii genetici calculați pentru toate exemplarele analizate
Genetic parameters for all brown bear individuals

Locus	N	Na	Ne	Ho	He	F
G10J	320	13	3.65	0.78	0.73	-0.08
MU50	320	18	6.02	0.83	0.83	0.00
G10C	320	13	5.97	0.88	0.83	-0.06
MU59	320	18	8.54	0.87	0.88	0.01
MU10	320	12	4.83	0.69	0.79	0.13
MU51	320	9	4.44	0.82	0.77	-0.06
MU15	320	12	3.13	0.64	0.68	0.06
G10B	320	13	3.90	0.82	0.74	-0.10
G10X	320	14	4.72	0.72	0.79	0.08
MU61	320	9	4.21	0.80	0.76	-0.05
G10P	320	10	4.49	0.75	0.78	0.04
G10L	320	15	8.45	0.85	0.88	0.03
G10D	320	9	4.24	0.83	0.76	-0.09
G1A	320	10	5.13	0.90	0.81	-0.12
MU09	320	12	6.15	0.70	0.84	0.17
G10M	320	9	3.10	0.73	0.68	-0.08
Media	320	12	5.06	0.78	0.78	-0.01

N - numărul de probe; Na - numărul de alele; Ne - numărul efectiv de alele; H_o - heterozigoția așteptată; H_e - heterozigoția observată; F - indicii de fixare;

Rezultatul obținut se datorează numărului ridicat de indivizi introduși în analiză, recoltați din întreaga arie de distribuție a speciei. Celelalte două studii desfășurate anterior au analizat un număr de probe semnificativ mai mic, utilizând totodată mai puțini microsateliți, iar prelevarea probelor s-a efectuat doar din câteva zone ale distribuției ursului în România. În acest context, datele din cercetările efectuate în cadrul acestei teze oferă informații cu o putere mai mare de rezoluție.

În ceea ce privește heterozigoția observată ($H_o=0.78$) și heterozigoția așteptată ($H_e=0.78$), valorile obținute sunt apropiate de cele rezultate din studiile anterioare, fiind totuși sensibil mai mici pentru cel de-a doilea parametru. Chiar și așa rezultatele indică o diversitate genetică ridicată pentru întreaga populație de urs brun din România. Markerii genetici care au înregistrat cele mai ridicate valori ale heterozigoției așteptate au fost MU59 și G10L ($H_e=0.88$). Analizând

valorile parametrilor genetici se constată că nu există indicii ale prezenței cosangvinizării, cel mai probabil regăsindu-se acțiunea factorilor evolutivi (selecția). Astfel, pe ansamblul locilor marker analizați a rezultat că indicele de fixare (F) este de numai -0.01.

S-a trecut apoi la analiza bayesiană, implementată cu ajutorul soft-ului STRUCTURE, în care s-au rulat simulări de la 1 la 10 cu 5 repetiții asigurate pentru fiecare K (Figura 27).

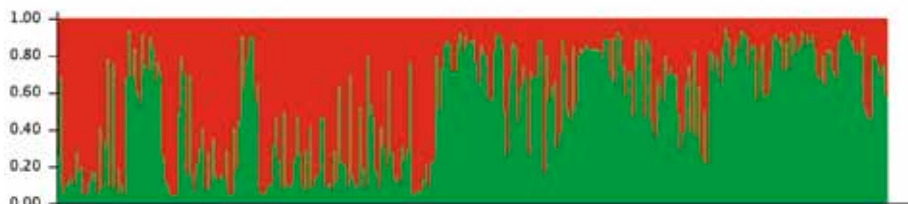


Fig. 27. Histogramă obținută cu ajutorul analizei Bayesiene pentru toți urșii analizați
Histogram resulted from Bayesian analysis including all bear individuals

Locațiile indivizilor au fost importate în GIS împreună cu valorile probabilității de apartenență ale fiecăruia pentru valoarea $K=2$, valoare suportată de ΔK , însă nesuportată de logaritmul probabilității. Mai departe s-a generat o hartă cu distribuția clusterelor genetice (Figura 28) pentru a se determina repartizarea acestora la nivel național.

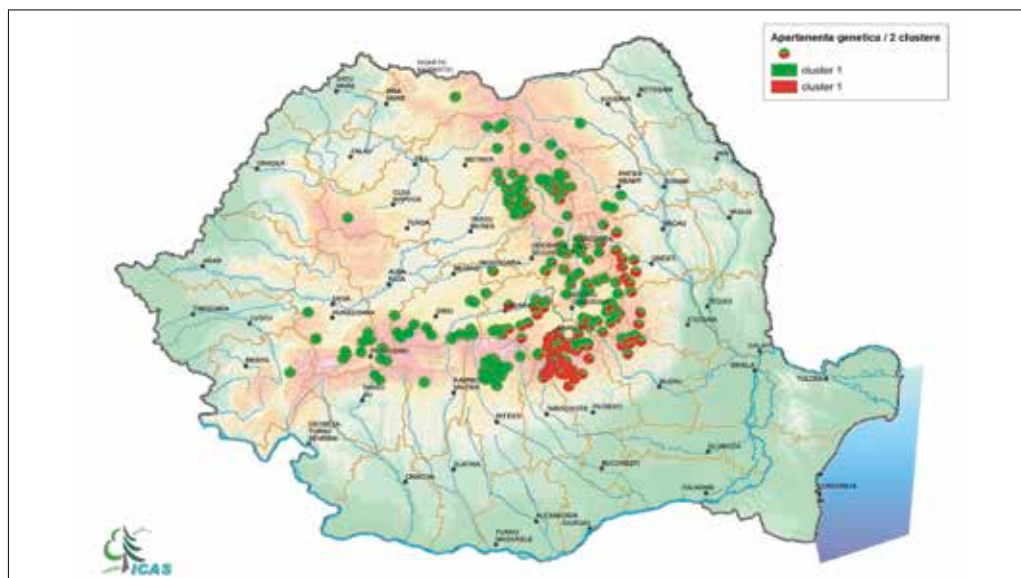


Fig. 28. Distribuția clusterelor genetice ($K=2$)
Distribution of genetic clusters ($K=2$)

În ceea ce privește rezultatele obținute din simulările în care s-au introdus toți indivizii, pentru urșii habitați nu s-a obținut suport statistic, atunci când s-a analizat logaritmul probabilității (Figura 29) și oscilațiile valorilor lui ΔK (Figura 30). Astfel, există probabilitatea ca setul de date să fie influențat fie de urșii habitați, care prezintă un grad de înrudire ridicat, fie de markerii la care a fost identificată prezența alelelor nule. Apariția centrului de greutate al clusterului de culoare roșie în zona de unde s-au prelevat probe de la urșii habitați întărește ipoteza conform căreia împărțirea în două clusteruri genetice ($K=2$) este determinată de prezența structurii familiale.

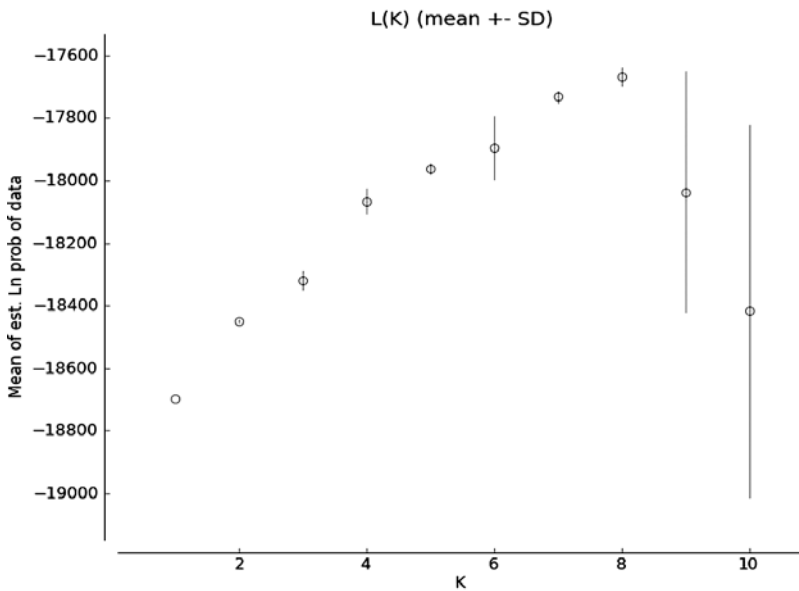


Fig. 29. Valorile medii ale logaritmului probabilității de estimare a numărului de subpopulații
Mean of estimated Ln probability of data

Mai departe s-a recurs la alte două moduri de analiză a datelor. Inițial s-au introdus în analiză toți indivizii și s-au exclus microsateliții care au prezentat alele nule, urmând ca apoi să se excludă indivizii habitați și să se păstreze markerii în cauză.

În cadrul primului tip de analiză a reieșit împărțirea în 3 subpopulații (Figura 32), rezultat asigurat de valoarea lui ΔK (Figura 31). Însă, așa cum se poate observa de pe histograma obținută pentru $K=3$, cele 3 subpopulații ipotetice rezultate nu se pot delimita. Prin intermediul testării realizată prin eliminarea markerilor care prezintă alele nule s-a obținut un număr mai mare

de clustere genetice ($K=3$), însă atunci când s-a implementat analiza valorilor medii ale logaritmului probabilității de estimare a numărului de subpopulații nu s-a asigurat suport statistic (Figura 33), rezultatul obținut fiind nevalidat. Acest rezultat întărește ipoteza anterioară conform căreia rezultatele pot fi influențate de gradul de înrudire a urșilor habituați, identificându-se un centru de greutate a două clustere genetice în zona de unde s-au recoltat probe de la urșii habituați.

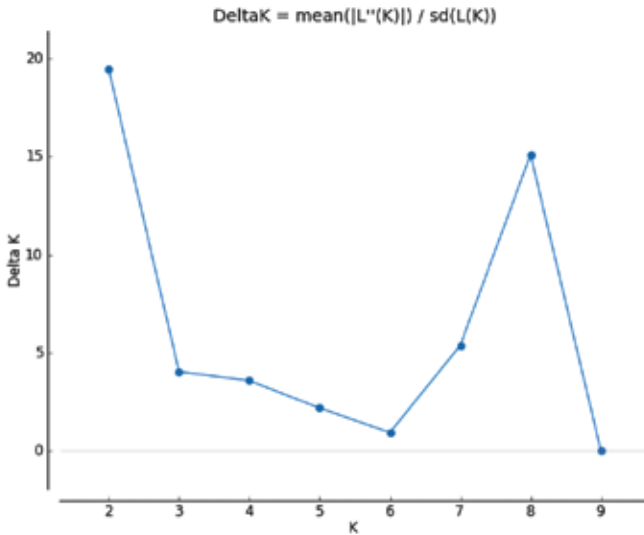


Fig. 30. Valorile obținute pentru ΔK
Values obtained for ΔK

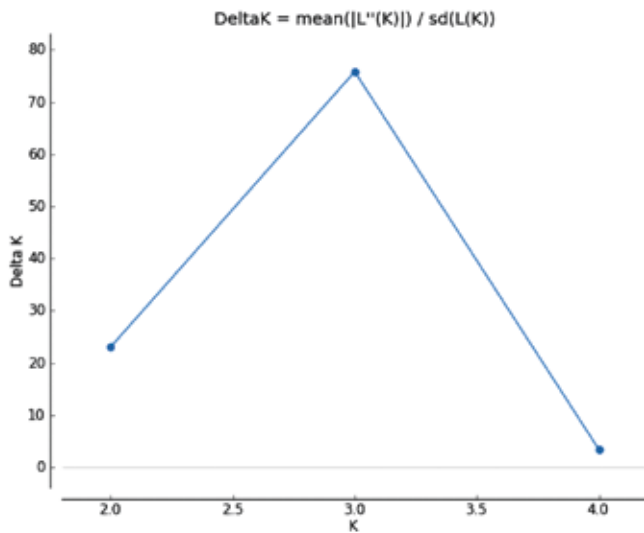


Fig. 31. Valorile obținute pentru ΔK
Values obtained for ΔK

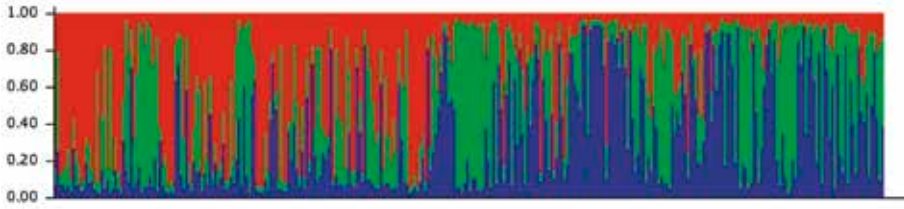


Fig. 32. Histogramă obținută cu ajutorul analizei Bayesiene pentru toți indivizii analizați, fără markerii cu alele nule ($K=3$)

Histogram resulted from Bayesian analysis including all individuals and excluding markers with null alleles ($K=3$)

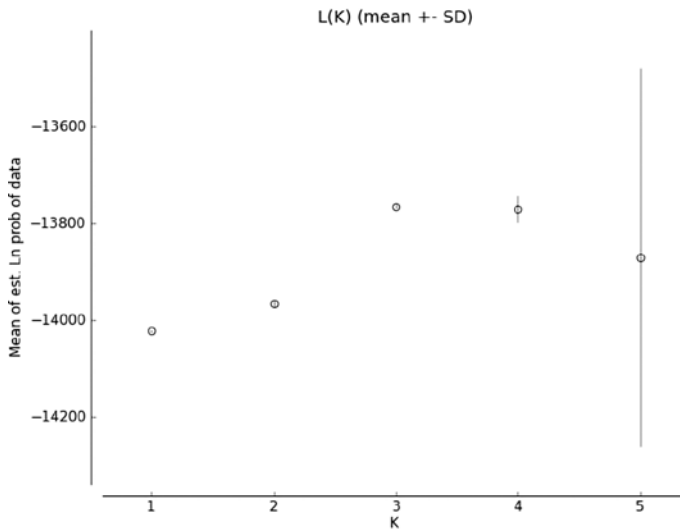


Fig. 33. Valorile medii ale logaritmului probabilității de estimare a numărului de subpopulații
Mean of estimated Ln probability of data

Ulterior s-a recurs la testarea gradului de înrudire a urșilor habituați. Pentru a estima probabilitatea de înrudire s-a utilizat soft-ul ML-Relate. Astfel, s-a impus pragul de 0.25 (semifrați) pentru a exprima înrudirea dintre indivizi (Figura 34).

Din totalul de 320 exemplare genotipate, au fost identificați 82 de indivizi înrudiți, care după analiza GIS a provenienței acestora au fost validați în unanimitate ca fiind urși habituați. De asemenea, s-a rulat suplimentar soft-ul KINGROUP, care a oferit rezultate asemănătoare.

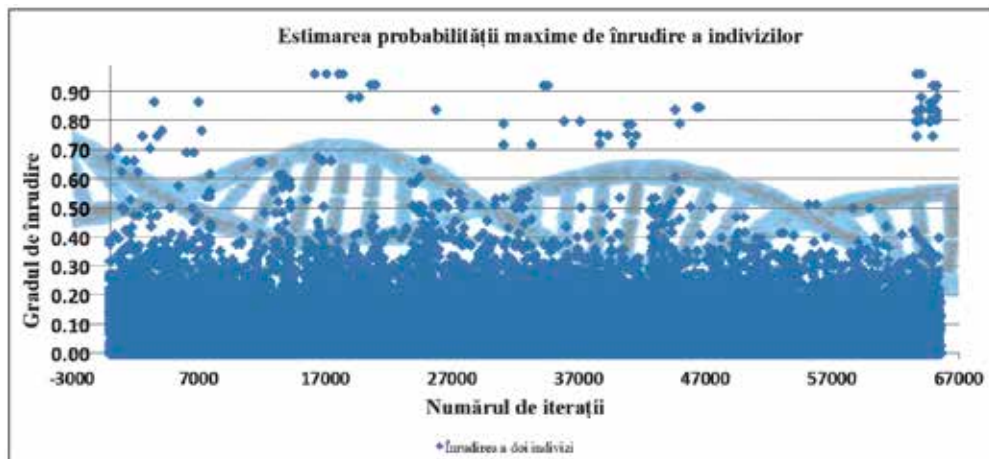


Fig. 34. Valorile medii ale logaritmului probabilității de estimare a numărului de subpopulații
Mean of estimated Ln probability of data

4.1.1.2. Diversitatea genetică a urșilor habitați și a celor nehabitați din zona Valea Prahovei-Brașov

Pentru a evalua diferențele în ceea ce privește valorile parametrilor genetici obținuți pentru urșii habitați și cei din liber, s-au introdus în analiză cei 82 de urși habitați împreună cu alți 63 de indivizi de la care s-au recepționat probe prin intermediul derogărilor.

Analiza comparativă a urșilor nehabitați și a celor habitați (Tabel 6) a indicat prezența unei diversități genetice ridicate în cazul primei categorii ($H_e=0.78$) și o valoare mai ridicată a heterozigoției observate ($H_o=0.84$). De asemenea, numărul de alele ($N_a=10$) și numărul efectiv de alele ($N_e=5.19$) înregistrează valori mai ridicate pentru urșii nehabitați decât pentru cei habitați ($N_a=9$, respectiv $N_e=4.26$). Valorile coeficientului de cosangvinizare indică o valoare doar cu puțin mai mare a excesului de heterozigoți pentru urșii nehabitați ($F=-0.07$) față de cei habitați ($F=-0.05$). În consecință, analiza comparativă a parametrilor genetici indică o anumită influență negativă a gradului de înrudire asupra diversității genetice și un număr mai mic de alele. Pentru a verifica existența diferențelor statistice între valorile heterozigoției așteptate s-au aplicat testele: Turkey, Newman-Keuls și Duncan în software-ul XLStat. Valorile obținute au fost ne semnificative, testele neoferind suport statistic ($p>0.05$) pentru diferențierea populațiilor de urși habitați și cei nehabitați. Aceasta sugerează faptul că fluxul genic dintre cele două subpopulații ipotetice există, valorile medii diferite ale heterozigoției așteptate indicând prezența unor linii înrudite la exemplarelor habituate (Cotovelea et al. 2014).

Tabel 6. Valori comparative ale parametrilor genetici la urșii habituați și nehabituați

Comparative values of genetic parameters for habituated bears and wild bears

Populație	Locus	N	Na	Ne	Ho	He	F
Urși habituați	G10J	82	9	3.70	0.77	0.73	-0.05
	MU50	82	12	4.75	0.73	0.79	0.07
	G10C	82	10	4.25	0.76	0.76	0.01
	MU59	82	15	6.81	0.80	0.85	0.06
	MU51	82	7	4.22	0.80	0.76	-0.05
	G10B	82	8	3.19	0.80	0.69	-0.17
	MU61	82	6	3.26	0.78	0.69	-0.13
	G10P	82	7	3.56	0.72	0.72	0.00
	G10L	82	13	5.89	0.76	0.83	0.09
	G10D	82	6	4.45	0.83	0.78	-0.07
	G1A	82	7	4.45	0.88	0.78	-0.13
G10M	82	6	2.61	0.76	0.62	-0.23	
Media urșilor habituați		82	9	4.26	0.78	0.75	-0.05
Urși nehabituați	G10J	63	12	3.02	0.76	0.67	-0.14
	MU50	63	11	5.56	0.83	0.82	-0.01
	G10C	63	11	5.71	0.92	0.83	-0.12
	MU59	63	15	8.78	0.94	0.89	-0.06
	MU51	63	8	4.73	0.84	0.79	-0.07
	G10B	63	12	4.10	0.79	0.76	-0.05
	MU61	63	7	3.82	0.84	0.74	-0.14
	G10P	63	8	5.27	0.76	0.81	0.06
	G10L	63	11	9.06	0.89	0.89	0.00
	G10D	63	6	4.07	0.84	0.75	-0.12
	G1A	63	7	5.02	0.87	0.80	-0.09
G10M	63	6	3.11	0.76	0.68	-0.12	
Media urșilor nehabituați		63	10	5.19	0.84	0.78	-0.07

Mai departe s-a calculat numărul de alele specifice pentru fiecare subpopulație ipotetică. Astfel, pentru exemplarele de urs nehabituată a rezultat un număr de 22 de alele specifice, în vreme ce pentru urșii habituați s-au identificat doar 14 alele specifice. Valorile frecvențelor alelelor specifice sunt foarte reduse în cadrul populației de urși habituați, în vreme ce pentru urșii nehabituați, din cele 22 de alele specifice identificate, trei dintre acestea prezintă frecvențe mai ridicate (Figura 35, 36). Apariția alelelor specifice este strâns legată de numărul de migranți per generație între populații sau subpopulații și este un indicator al fluxului de gene, sugerând astfel că subpopulația urșilor nehabituați are o structură panmictică, în vreme ce gradul de înrudire a urșilor habituați poate să conducă în timp la efecte specifice incidenței consangvinizării. Este important de subliniat faptul că urșii habituați și-au mărit efectivele în decursul ultimelor două decenii, tocmai de aceea rezultatele obținute pentru exemplarele analizate sunt îngrijorătoare.

Prin aplicarea testului AMOVA a rezultat că între cele două subpopulații analizate s-a acumulat o diferență genetică de 2%, în vreme ce diferențierea dintre indivizi înregistrează cea mai mare valoare (98%) (Figura 37).

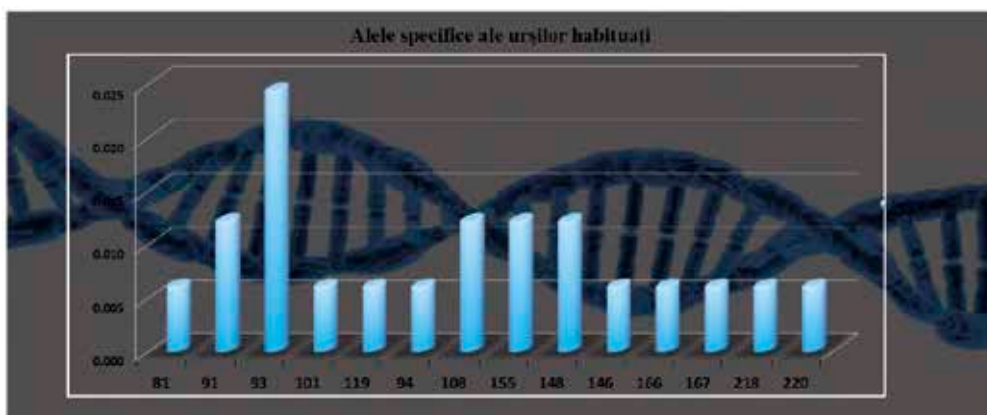


Fig. 35. Valorile medii ale logaritmului probabilității de estimare a numărului de subpopulații
Mean of estimated Ln probability of data
Private alleles of habituated individuals and their frequency

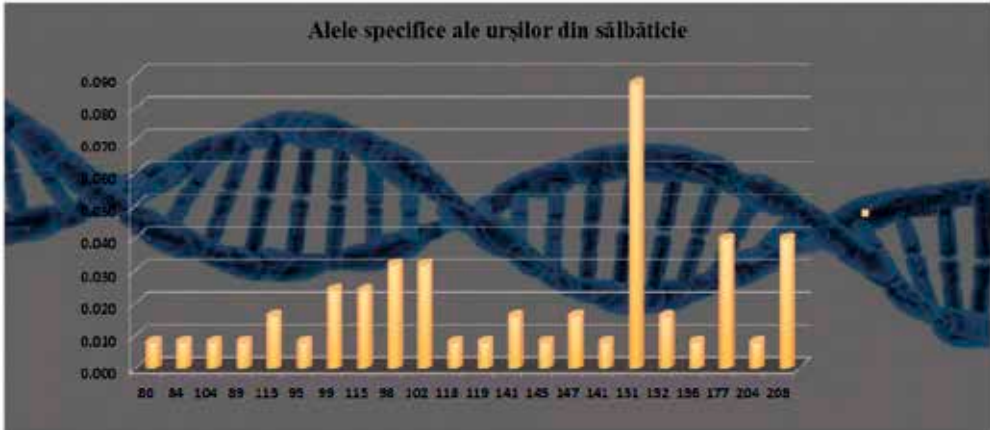


Fig. 36. Alelele specifice urșilor nehabituăți (bp) și frecvența acestora
Private alleles of wild individuals and their frequency

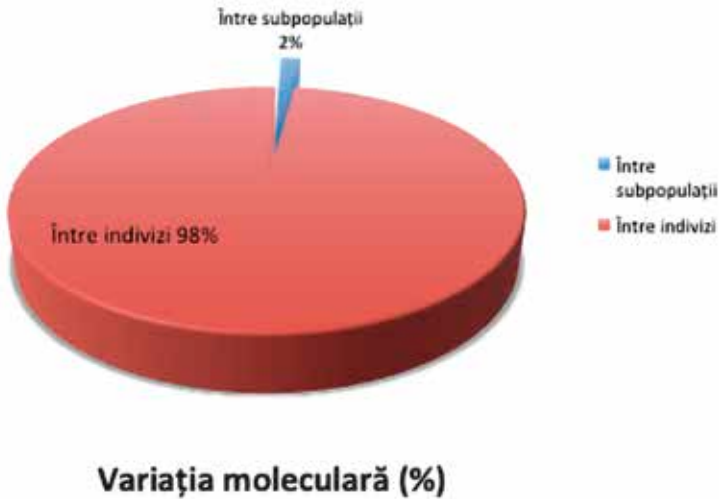


Fig. 37. Alelele specifice urșilor nehabituăți (bp) și frecvența acestora
Private alleles of wild individuals and their frequency

Având la bază analiza anterioară s-a decis excluderea urșilor habituăți din analizele privitoare la determinarea diversității genetice pentru populația de urs din România, respectiv din analizele de tip *landscape genetics*, pentru a evita deformarea rezultatelor.

4.1.1.3. Diversitatea genetică a populației de urs din România

4.1.1.3.1. Parametrii genetici

Pentru determinarea parametrilor genetici s-au eliminat nu numai exemplarele de urși habitați, ci și datele furnizate de markeri genetici care au prezentat alele nule (Mu10, Mu15, G10X și Mu09). Au rămas astfel în analiză probe de la 238 exemplare, respectiv date genetice furnizate de 12 markeri. Pentru acești markeri genetici nu s-a detectat prezența alelelor nule, dovezi ale devierii de la valorile normale sau alele care nu au înregistrat scoring.

Numărul de alele per locus (Na) a variat de la 9 (Mu51, Mu61, G10D, G10M) la 17 (Mu50, Mu59), în vreme ce media numărului de alele *per locus* a fost de 12 (Tabel 7). Sunt semnalate diferențe ale valorilor parametrilor obținuți comparativ cu rezultatele analizei anterioare (când s-au considerat și urși habitați). Astfel, a crescut numărul de alele înregistrate pentru markerii Mu50 și Mu59, modificându-se, de asemenea, și numărul efectiv de alele, care în prezent a înregistrat o ușoară creștere (de la 5.06 la 5.45).

Tabel 7. Parametrii genetici rezultați pentru populația de urs din România
Genetic parameters for Romanian brown bear population

Locus	N	Na	Ne	Ho	He	F
G10 J	238	13	3.74	0.78	0.73	-0.06
MU50	238	17	6.20	0.86	0.84	-0.03
G10C	238	13	6.35	0.89	0.84	-0.06
MU59	238	17	8.35	0.88	0.88	-0.01
MU51	238	9	4.64	0.82	0.78	-0.04
G10B	238	13	3.91	0.83	0.74	-0.12
G10X	238	13	6.09	0.81	0.84	0.03
MU61	238	9	4.37	0.78	0.77	-0.01
G10L	238	14	8.90	0.87	0.89	0.02
G10D	238	9	4.26	0.82	0.77	-0.08
G1A	238	10	5.36	0.93	0.81	-0.14
G10M	238	9	3.25	0.73	0.69	-0.06
Media pe populație	238	12	5.45	0.83	0.80	-0.05

În ceea ce privește heterozigoția așteptată, locusul G10L a înregistrat cea mai mare valoare ($H_e=0.89$), în vreme ce media populației a fost de 0.80; această valoare este similară cu cea obținută în studiile desfășurate anterior pe exemplare de urs din România (Zachos et al. 2008; Straka et al. 2012). Însă foarte important de precizat este faptul că prezentul studiu este realizat pe un eșantion considerabil mai mare de probe și utilizează un număr ridicat de microsateleți, crescând astfel relevanța rezultatelor obținute. Populația de urs din România înregistrează una din cele mai mari valori ale diversității genetice (Cotovelea et al. 2013). Astfel, analizând studiile de până în prezent, cel mai mare nivel al diversității genetice este înregistrat de către populația de urs din Rusia ($H_e=0.83$), în regiunea Kirov Oblast, în vreme ce valoarea cea mai scăzută o înregistrează populația din Spania, urmată îndeaproape de populația din Kodiak ($H_e=0.27$). Populația de urs din România înregistrează pentru diversitatea genetică una dintre cele mai mari valori, ocupând poziția 3, după Rusia și Finlanda (Cotovelea et al. 2013).

De remarcat este faptul că excluderea urșilor habituați a înregistrat efecte asupra mediei heterozigoției, așteptate per populației (Tabel 7), rezultând astfel o diversitate genetică mai ridicată cu două procente ($H_e=0.80$) decât cea obținută în testările anterioare (Tabel 5). Aceeași situație se înregistrează și pentru media heterozigoției observate per populația de urs, aceasta înregistrând o creștere de cinci procente ($H_o=0.83$), față de valoarea anterioară (Tabel 5). Analiza valorii indicelui de fixare (F) indică prezența selecției în favoarea indivizilor heterozigoți, rezultat înregistrat pentru mai mulți markeri genetici, însă valoarea înregistrată de această dată nu diferă semnificativ față de cea determinată pentru urșii nehabituați din zona Brașov-Valea Prahovei.

4.1.1.3.2. Structura populațională

Utilizând rezultatele obținute cu ajutorul soft-urilor ML-Relate și KINGROUP, s-au exclus din analize cei 82 de indivizi înrudiți care prezentau o structură familială (urși habituați).

Rezultatele analizei bayesiene implementată cu ajutorul programului STRUCTURE

s-au testat utilizând Structure Harvester (Evanno et al. 2005), determinând astfel valorile lui ΔK , din care a rezultat un număr de populații $K=2$ (Figura 38). Cea de-a doua metodă de detectare a numărului de populații, bazată pe valorile medii ale logaritmului de estimare a probabilității $LnPr(X|K)$, a indicat faptul că numărul de populații este egal cu 1 (Figura 40). Chiar dacă valoarea menționată ($K=2$) a înregistrat cel mai mare suport, s-a considerat curba oscilațiilor lui ΔK

(Figura 38) ca fiind un indiciu al incertitudinii rezultatului obținut, astfel că testarea prin cele două metode a condus la concluzia de a considera $K=1$.

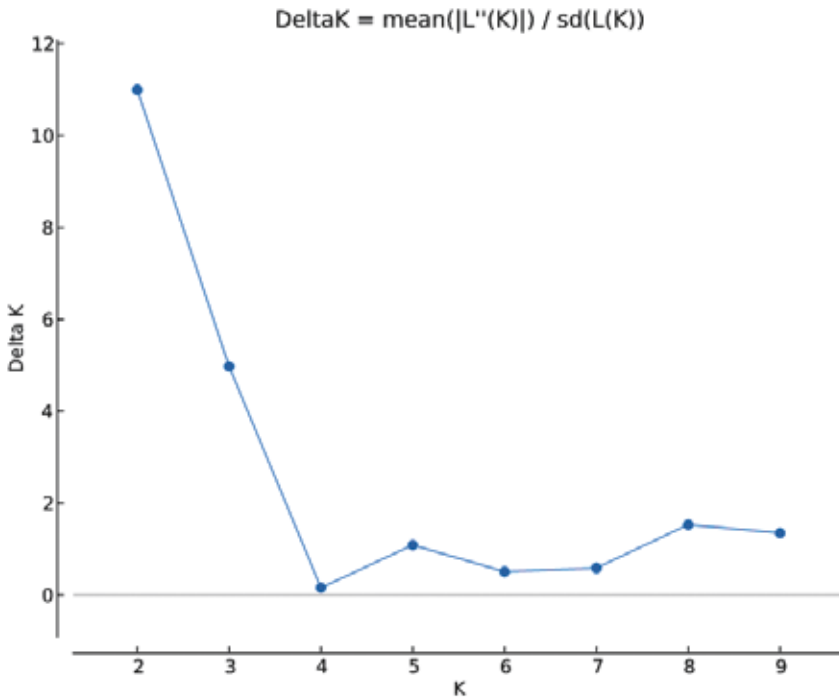


Fig. 38. Valorile lui ΔK
Values obtained for ΔK

De asemenea, din histograma obținută în urma analizei Markov chain Monte Carlo se poate observa că valoarea $K=2$ (Figura 39) nu reprezintă obiectiv împărțirea populației în clustere genetice. În urma analizei a priori, separarea acestora nu este evidentă, indivizii fiind caracterizați de întrepătrunderea caracteristicilor modelului probabilității de distribuție a celor două clustere genetice sugerate de valoarea $K=2$.



Fig. 39. Histogramă obținută cu ajutorul analizei Bayesiene pentru populația de urs din România ($K=2$)

Histogram resulted from Bayesian analysis for Romanian brown bear population ($K=2$)

Mai departe s-au verificat valorile medii ale logaritmului de estimare a probabilității $LnPr(X|K)$ (Figura 40), acestea indicând structura genetică reală ($K=1$), lucru confirmat și de testarea cu ajutorul soft-ului TESS, care a oferit aceeași rezoluție.

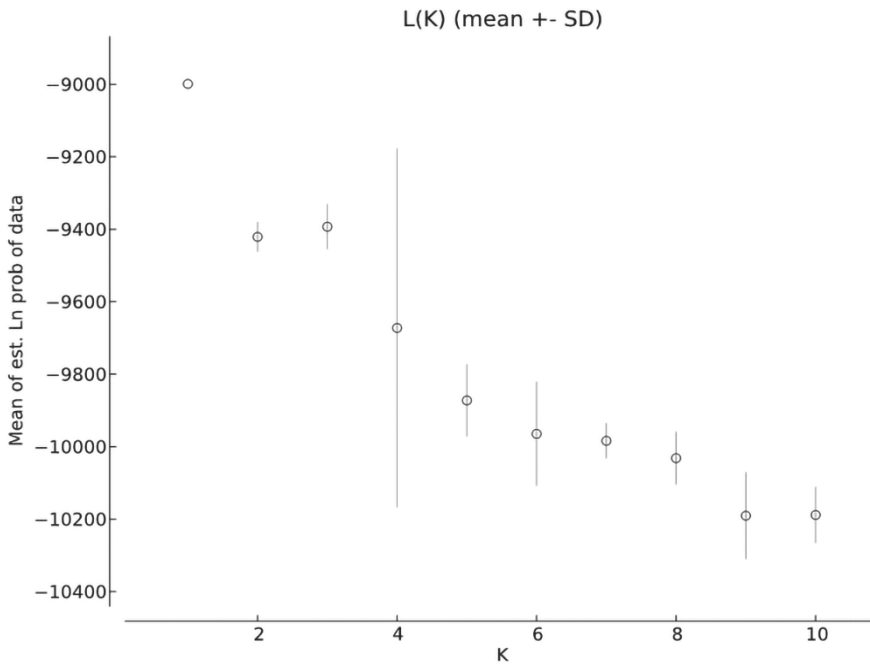


Fig. 40. Valorile medii ale logaritmului probabilității de estimare a numărului de subpopulații
Mean of estimated Ln probability of data

Datele rezultate din soft-ul TESS au fost exportate pentru fi analizate cu ajutorul soft-ului CLUMPP. Răspunsul privind împărțirea în subpopulații a fost similar cu cel obținut anterior și anume $K=1$. În Figura 41 este redată histograma rezultată din TESS pentru $K=2$ și, după cum se observă, aceasta este similară cu cea obținută din STRUCTURE.



Fig. 41. Histogramă rezultată din soft-ul-TESS pentru $K=2$
Histogram resulted from TESS software for $K=2$

Rezultatele similare obținute prin aplicarea celor două metode diferite de analiză oferă certitudinea determinării corecte a structurii populaționale. Astfel, populația de urs din România este nefragmentată, fără a prezenta structurare subpopulațională ($K=1$).

Însă, pentru că efectele diferențierii la nivel de individ nu se pot determina prin analiza populațională, se va recurge la implementarea analizei de tip *landscape genetics* (o analiză care oferă o rezoluție mărită a structurii genetice, la nivel de individ). Pentru aceasta este nevoie să se realizeze analiza întregului eșantion de probe genetice, pentru a se realiza un input reprezentativ.

4.1.2. Analiza de tip *landscape genetics*

Pentru implementarea analizei de tip *landscape*, s-a asigurat distribuția uniformă a probelor în întreg arealul de distribuție al speciei, asigurându-se un număr de indivizi uniform eșantionați și distribuiți pe clase de distanță. S-au eliminat astfel încă 39 de indivizi (în afară de cei habituați eliminați anterior), care influențau distribuția uniformă a probelor, decalibrând, astfel, reprezentativitatea claselor de distanță. Prin urmare, au intrat în analiză un număr de 199 de exemplare.

4.1.2.1. Izolarea prin distanță

Pentru întregul set de 199 probe de urs analizate s-a identificat un semnal foarte slab al prezenței izolării prin distanță ($r=0.066$; $p=0.046$) (Figura 42). Valoarea înregistrată este foarte aproape de limita prag a semnificației statistice ($p=0.05$), de aceea se consideră că diferențierea genetică a indivizilor nu reprezintă doar un produs al distanțelor geografice, aceasta fiind explicată și de influența factorilor naturali și antropici. De asemenea, valoarea obținută nu oferă rezoluție suficientă privind izolarea prin distanță, datorită unor caracteristici comportamentale diferențiate pe sexe: dispersia masculilor, respectiv filopatria femelelor.

Pasul următor a constat în analiza separată a femelelor și a masculilor. Împărțirea bazei de date s-a efectuat utilizând markerul genetic de identificare a sexului (SRY). Atunci când s-a analizat eșantionul de femele (51), pe baza rezultatelor s-a infirmat ipoteza conform căreia acestea sunt izolate prin distanță ($r=0.108$; $p=0.078$) (Figura 43).

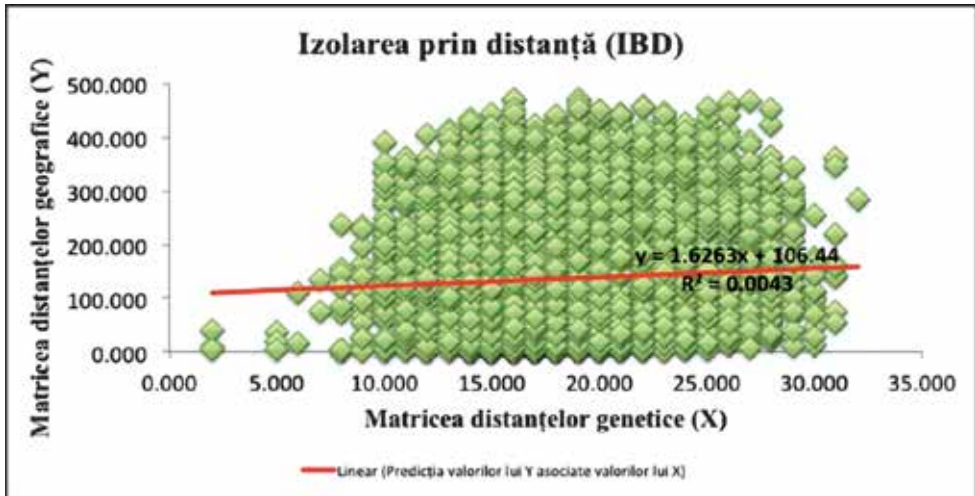


Fig. 42. Izolarea prin distanță a întregului eșantion
Isolation-by-distance for all samples

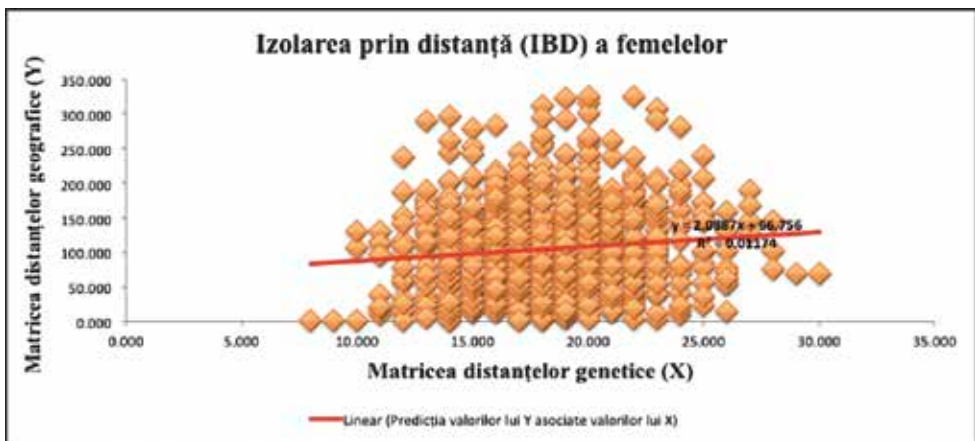


Fig. 43. Izolarea prin distanță a femelelor
Isolation-by-distance for females

Pe de altă parte, atunci când s-a analizat eșantionul de masculi, rezultatele nu au fost semnificative din punct de vedere statistic ($r=0.027$, $p=0.261$). Concluzia desprinsă este aceea că diferențele genetice apărute între indivizii masculi nu se explică prin distanțele geografice dintre aceștia (Figura 44).

Pentru a verifica rezultatele obținute anterior s-a trecut la generarea corelogramei Mantel, aceasta indicând prezența unui semnal al izolării prin distanță pentru întregul eșantion analizat, în prima clasă de distanță (între 0 și 50 km), mai exact în jurul valorii de 14 km (Figura 45).

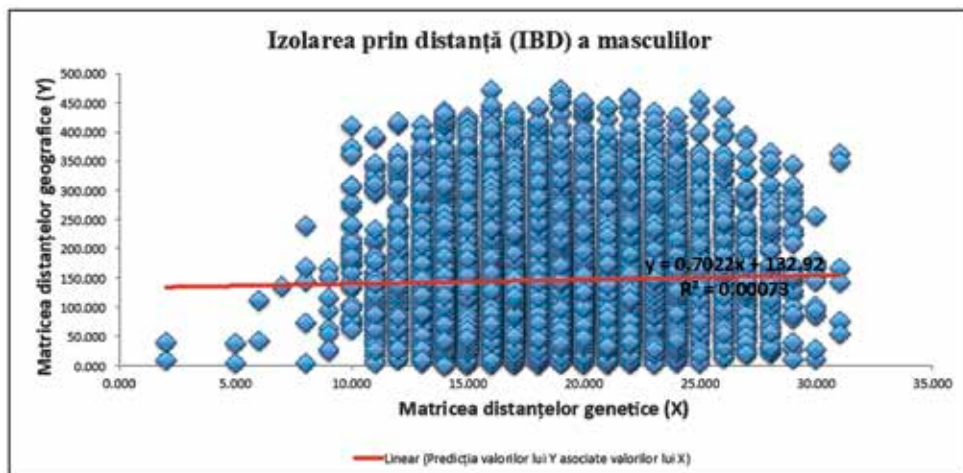


Fig. 44. Izolarea prin distanță a masculilor
Isolation-by-distance for males

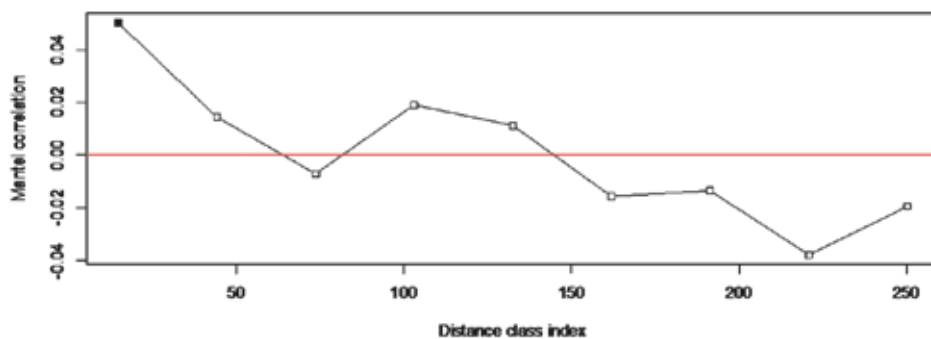


Fig. 45. Corelograma Mantel pentru întregul eșantion analizat (femele+masculi)
Mantel correlogram for all samples (females+males)

S-a trecut ulterior la analiza separată a masculilor și femelelor, în vederea determinării influenței teritorialismului femelelor și/sau a dispersiei masculilor, situații care ar fi putut distorsiona rezultatele globale anterioare. Astfel, în urma analizei eșantionului de femele s-a detectat un semnal al izolării prin distanță în clasa de distanță de 14 km (Figura 46). Semnalul foarte slab pentru izolarea prin distanță prezent în clasa de distanță de 60 km s-a considerat a fi cauzat de distribuirea uniformă a probelor în două zone specifice.

În ceea ce privește analiza eșantionului de masculi, nu a fost înregistrat niciun semnal al prezenței izolării prin distanță (Figura 47). Rezultatul obținut confirmă dispersia masculilor, pe distanțe mari.

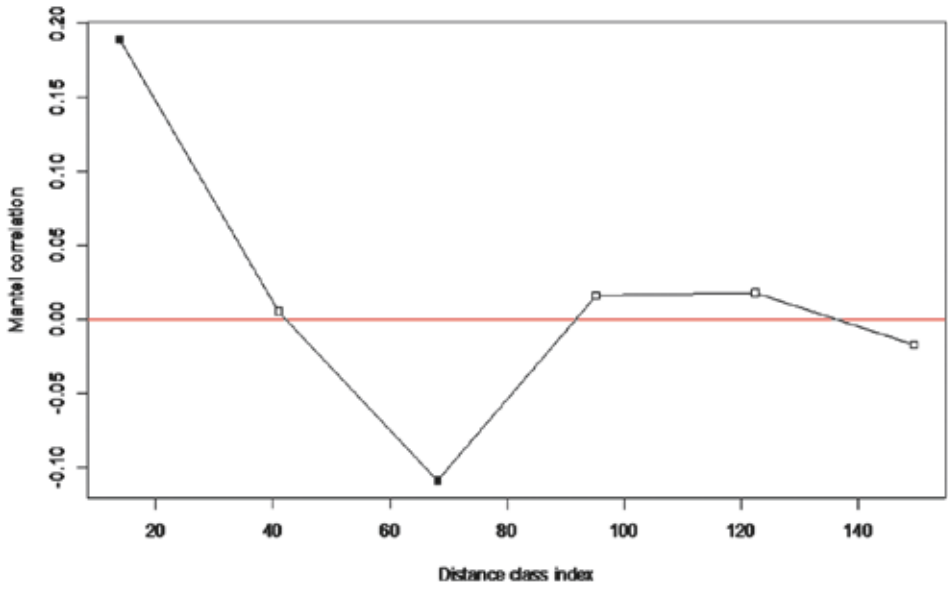


Fig. 46. Corelograma Mantel pentru femele
Mantel correlogram for females

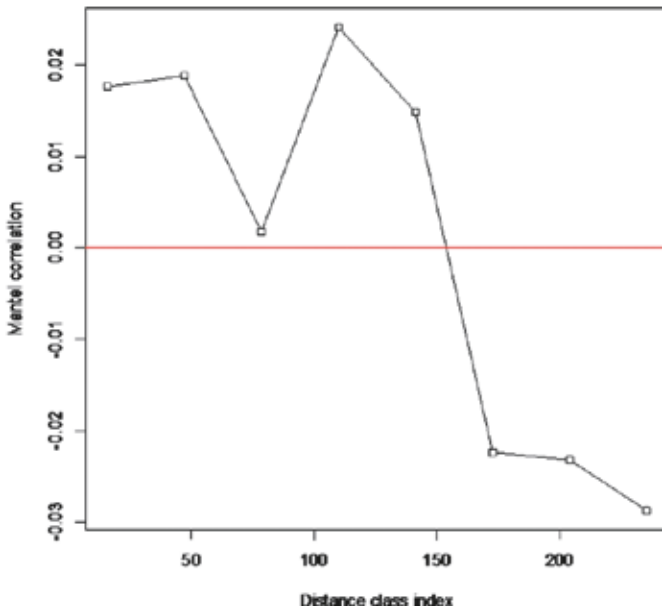


Fig. 47. Corelograma Mantel pentru masculi
Mantel correlogram for males

4.1.2.2. Izolarea prin distanță

S-a selectat cea mai bună funcție putere pentru fiecare variabilă utilizând testul *Mantel* și *testul Parțial Mantel* (Tabel 8). Funcțiile selectate au fost 0.6^x pentru drumuri, 0.2^x pentru expoziție, 0.4^x pentru expoziție nord-estică, 0.2^x pentru densitățile urșilor, 0.6^x pentru altitudine, 0.4^x pentru localități, 0.2^x pentru pantă, liniară pentru habitate forestiere respectiv neforestiere și 3^x pentru habitatele forestiere.

Tabel 8. Semnificația statistică a testului Mantel și a testului Parțial Mantel
Statistical significance of Mantel test and Partial Mantel test

Parametrul	Testul Mantel		Testul Parțial Mantel	
	indicele statistic r:	Valoarea simulată p	indicele statistic r:	Relevanța:
Expoziție sud-estică	0.059	0.0595	0.088	0.0075
Expoziție nord-estică	0.131	0.0002	0.144	0.0001
Expoziție sud-estică masculi	0.071	0.0318	0.091	0.0175
Expoziție sud-estică femele	0.156	0.0114	0.124	0.0438
Expoziție nord-estică masculi	0.125	0.0014	0.177	0.0002
Expoziție nord-estică femele	0.173	0.0063	0.159	0.0162
Densități urs	0.001	0.4795	-0.034	0.7673
Altitudine	0.037	0.1949	-0.023	0.6758
Așezări umane	0.072	0.0263	0.040	0.1605
Pantă	0.098	0.0007	0.084	0.0070
Râuri	0.100	0.0008	0.106	0.0002
Drumuri	0.095	0.0013	0.094	0.0004
Habitat forestiere și neforestiere	0.029	0.2456	-0.002	0.5107
Habitat forestiere	0.039	0.1785	0.008	0.4243

Parametrii care prezintă suport statistic sunt indicați în **bold**.

La testarea funcțiilor putere utilizând regresia multiplă (*MRM*), următorii parametri au prezentat valori nesemnificative: localități, densitatea urșilor, altitudinea și habitatele forestiere. Acești factori au fost excluși mai departe din analiză. Parametrii care au înregistrat suport statistic sunt următorii: expoziția sud-estică, expoziția nord-estică, panta, râurile și drumurile. Expoziția sud-estică nu a înregistrat valori semnificative atunci când s-a realizat o analiză diferențiată a masculilor și a femelelor, sugerând astfel prezența influenței efectului cumulat al probelor asupra valorilor obținute la testele aplicate anterior (Tabel 9).

Tabel 9. Rezultatele aplicării regresiei multiple pe matrici de distanță
Results of multiple regressions on distance matrices

Parametrul	MRM	
	R ²	p-value
Expoziția sud-estică	0.007	0.009
Expoziția nord-estică	0.012	0.001
Expoziția sud-estică masculi	0.004	0.093
Expoziția sud-estică femele	0.016	0.070
Expoziția nord-estică masculi	0.012	0.007
Expoziția nord-estică femele	0.024	0.028
Pantă	0.008	0.003
Râuri	0.006	0.014
Drumuri	0.005	0.016

Parametrii care prezintă suport statistic sunt indicați în **bold**.

Regresia multiplă (*MRM*) a fost utilizată pentru a determina semnificația statistică a combinațiilor de câte doi parametri. Astfel, cea mai mare valoare a semnificației ($p=0.0049$) a rezultat din combinarea expoziției nord-estice cu drumurile, acestea explicând două procente din diferențele genetice înregistrate între indivizi. Modelul următor, care a înregistrat cea mai bună valoare pentru coeficientul de determinație R^2 a fost alcătuit din drumuri și pantă ($R^2=0.055$), explicând astfel cinci procente din variația genetică dintre indivizi. Ca atare, atunci când se combină efectul a doar doi parametri, o contribuție importantă în predicția fluxului de gene revine drumurilor în combinație cu expoziția nord-estică, respectiv drumurilor și pantei terenului (Tabel 10).

Tabel 10. Rezultatele modelării influenței combinate a unor factori mediogeni asupra fluxului de gene
Results of the landscape features combination

Matricea distanțelor genetice~Factorul de mediu/antropic	Drumuri	Expoziție sud-estică	Expoziție nord-estică	Pantă
Râuri	$R^2=0.006$ $p=0.129$	$R^2=0.007$ $p=0.098$	$R^2=0.015$ $p=0.011$	$R^2=0.008$ $p=0.054$
Drumuri	-	$R^2=0.013$ $p=0.035$	$R^2=0.021$ $p=0.004$	$R^2=0.055$ $p=0.008$
Expoziție sud-estică		-	-	$R^2=0.008$ $p=0.052$
Expoziție nord-estică			-	$R^2=0.012$ $p=0.014$

Parametrii care prezintă suport statistic sunt indicați în **bold**.

Considerând valorile AIC_c (valoarea corectată a criteriului informațional Akaike) a fost selectat cel mai robust model alcătuit din expoziție nord-estică, râuri, drumuri, pantă și distanțe Euclidiene ($R^2=0.025$, $w_i=0.654$) (Tabel 11). Mai departe s-a determinat coeficientul de coliniaritate (VIF), acesta indicând prezența multicoliniarității drumurilor și râurilor. Astfel, efectul râurilor poate fi prezis sub forma unei funcții liniare în cel al drumurilor, deoarece de cele mai multe ori infrastructura de transport este construită după forma văilor.

Multicoliniaritatea identificată anterior a determinat excluderea alternativă a râurilor, respectiv a drumurilor din modelare. Atunci când s-au exclus râurile, cea mai bună valoare pentru AIC_c , a fost obținută pentru o combinație formată din expoziția nord-estică, drumuri, pantă și distanțele Euclidiene ($R^2=0.0238$, $w_i=0.993$). Al doilea pas a constat în excluderea drumurilor, obținându-se cea mai mare valoare AIC_c în cadrul modelării compuse din expoziția nord-estică, pantă, râuri și distanțe Euclidiene. Alte modele dintre cele analizate au înregistrat valori AIC_c nesemnificative comparativ cu cele anterioare. În consecință, din acțiunea combinată a drumurilor, pantei, expoziției nord-estice și a distanțelor Euclidiene rezultă modelul care prezice cel mai bine schimbul de informație genetică dintre indivizii de urs brun din România. Astfel, fluxul de gene este facilitat atunci când urșii utilizează expoziții apropiate de cea nord-estică, deplasându-se pe porțiuni cu înclinare redusă (pante mici), în zone lipsite de drumuri sau, dacă acestea există, caracterizate prin trafic redus. Este prezumabil ca fluxul de gene să fie diminuat în zone traversate de drumuri cu trafic intens, cum sunt cele europene sau autostrăzile.

**Tabel 11. Modelarea influenței factorilor antropici și naturali
Landscape genetics modelling**

Model	Variabile	Beta	Model R^2	p	VIF	Model AIC_c	Delta AIC_c	Akaike Weight (w_i)
A1	EXPOZIȚIE SUD-ESTICĂ	0.05396	0.01809	0.0541		48162.9	0.00	0.881
	PANTĂ	0.05450			8.941			
	RĂURI	0.33588			4.845			
	DRUMURI	-0.20068			47.745			
	DISTANȚE EUCLIDIENE	-0.15068			53.325			
	5.145							
Excludere RĂURI								
A1.1	EXPOZIȚIE SUD-ESTICĂ							
	PANTĂ				8.908			
	DRUMURI				4.842			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				13.851			
					5.008			
A1.2	PANTĂ		0.01212	0.0331		48212.2	6.40	0.039
	DRUMURI				4.691			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				8.590			
					4.973			
A1.3	EXPOZIȚIE SUD-ESTICĂ		0.01351	0.0312		48216.7	10.86	0.004
	DRUMURI				8.631			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				11.696			
					5.008			

Model	Variabile	Beta	Model R^2	p	F/I	Model AIC_c	Delta AIC_c	Akaike Weight (w_p)
A1.4	EXPOZIȚIE SUD-ESTICĂ		0.01400	0.0265		48218.8	13.02	0.001
	PANTĂ				5.525			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				4.089			
					3.868			
Excludere RĂURI								
			0.02561	0.0121		47978.3	0.00	0.654
A2	EXPOZIȚIE NORD-ESTICĂ	0.25135			6.330			
	PANTĂ	0.08033			4.734			
	RĂURI	0.096444			53.682			
	DRUMURI	-0.170690			49.686			
	DISTANȚE EUCLIDIENE	-0.142922			5.120			
A2.1	EXPOZIȚIE NORD-ESTICĂ		0.0238	0.006		47979.6	0.00	0.993
	PANTĂ				5.609			
	DRUMURI				4.714			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				13.452			
					4.980			
A2.2	EXPOZIȚIE NORD-ESTICĂ		0.0238	0.0024		47989.5	9.94	0.007
	PANTĂ				3.582			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				3.240			
					3.656			

Model	Variabile	Beta	Model R^2	p	F/F	Model AIC_c	Delta AIC_c	Akaike Weight (w_i)
Excludere DRUMURI								
B1	EXPOZIȚIE SUD-ESTICĂ	0.05396	0.01809	0.0541		48162.9	0.00	0.881
	PANTĂ	0.05450			8.941			
	RĂURI	0.33588			4.845			
	DRUMURI	-0.20060			47.745			
	DISTANȚE EUCLIDIENE	-0.15068			53.325			
					5.145			
B1.1	EXPOZIȚIE SUD-ESTICĂ		0.01749	0.0247		48175.3	0.00	0.531
	PANTĂ				8.330			
	RĂURI				4.691			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				12.401			
					5.094			
B1.2	PANTĂ		0.01495	0.0115		48175.7	0.41	0.433
	RĂURI				4.437			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				8.224			
					5.040			
B1.3	EXPOZIȚIE SUD-ESTICĂ		0.01636	0.0169		48181.0	5.74	0.030
	RĂURI				7.879			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				10.810			
					5.093			
B1.4	RĂURI		0.01293	0.0031		48184.1	8.85	0.006
	DISTANȚE EUCLIDIENE				5.034			
					5.034			

Model	Variabile	Beta	Model R^2	p	VIF	Model AIC_c	Delta AIC_c	Akaike Weight (w_j)
Excludere DRUMURI								
B2			0.02561	0.0121		47978.3	0.00	0.654
	EXPOZIȚIE NORD-ESTICĂ	0.25135			6.330			
	PANTĂ	0.08033			4.734			
	RĂURI	0.09644			53.682			
	DRUMURI	-0.17069			49.686			
	DISTANȚE EUCLIDIENE	-0.14292			5.120			
			0.02418	0.0046		47987.5	0.00	0.731
B2.1	EXPOZIȚIE NORD-ESTICĂ				6.330			
	PANTĂ				4.471			
	RĂURI				14.534			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				5.042			
			0.0238	0.0018		47989.5	2.01	0.268
B2.2	PANTĂ				3.240			
	EXPOZIȚIE NORD-ESTICĂ				3.582			
	DISTANȚE EUCLIDIENE				3.656			

4.1.2.3. Hărțile predictive ale fluxului de gene și ale conectivității între habitatele specifice ursului

Hărțile fluxului genic indică zona sud-estică a Carpaților ca înregistrând cea mai mare intensitate a acestuia. Pentru fiecare factor natural și/sau antropic, care în urma modelării a indicat influență în desfășurarea fluxului de gene, respectiv pentru expoziția nord-estică (Figura 48), pantă (Figura 49), râuri (Figura 50) și drumuri (Figura 51), s-au generat hărți predictive ale fluxului de gene.

Cele mai probabile rute utilizate de indivizi pentru deplasare, dată fiind rezistența la mișcare indivizilor a factorilor naturali și antropici menționați anterior, sunt evidențiate cu maro închis. Aceste rute opun cea mai mică rezistență la mișcarea indivizilor, în acest mod asigurând conectivitatea și transmiterea informației genetice dintre exemplarele de urs brun din areale limitrofe.

Harta modelului care a prezentat suport statistic a avut la bază combinarea parametrilor: drumuri, pantă, expoziția nord-estică și distanțele Euclidiene. Pe baza acestora s-au realizat predicții ale rutelor selectate de urși pentru deplasare, nu numai pentru a-și asigura hrana, ci și în vederea împerecherii, cu efectele ce decurg în realizarea fluxului genic (Figura 52).

În consecință, s-au identificat și mai apoi s-au delimitat zonele unde fluxul de gene este redus (Figura 51). Pentru o bună localizare a acestor zone s-a utilizat fie denumirea văii unde este localizat drumul, fie s-a preluat denumirea a două localități mari legate de acel drum. S-a ales parametrul *drumuri* ca mod de identificare a zonelor, din cauza efectelor negative pe care le exercită în mișcarea indivizilor (Riley et al. 2006).

Cele mai probabile rute utilizate de indivizi pentru deplasare, dată fiind preferința exemplarelor de urs pentru expoziția nord-estică, sunt evidențiate cu ajutorul culorilor maro, portocaliu și galben. Se observă astfel un flux de gene intens în Carpații de Curbură, în vreme ce în celelalte zone din arealul de distribuție al speciei acesta înregistrează valori medii, redate pe hartă cu ajutorul culorilor verde și albastru. Totuși, la scară mare nu apar discontinuități datorate preferinței la mișcarea indivizilor pentru expoziția nord-estică.

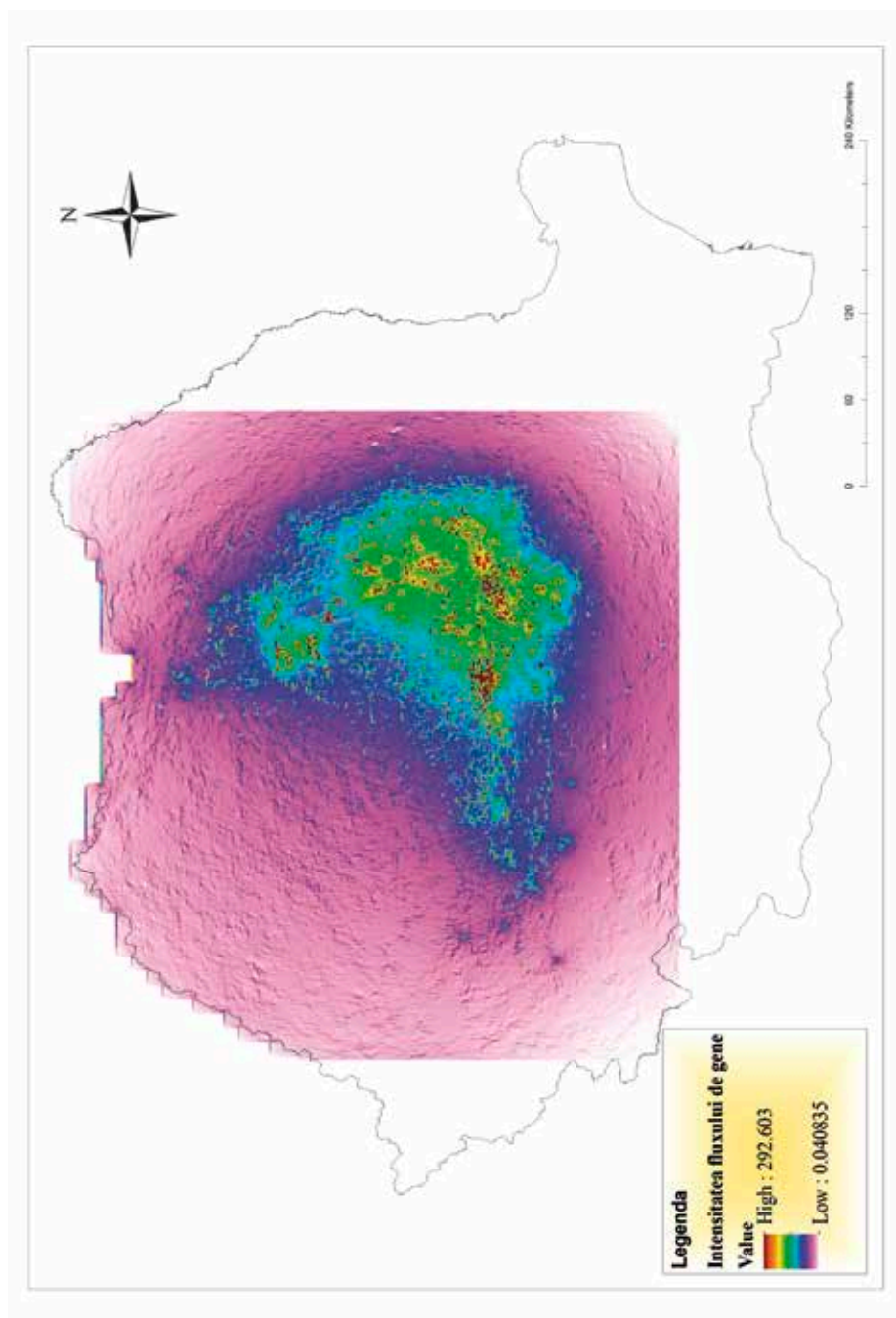


Fig. 48. Influența expoziției nord-estice asupra fluxului de gene
North-east aspect facing influence on gene flow

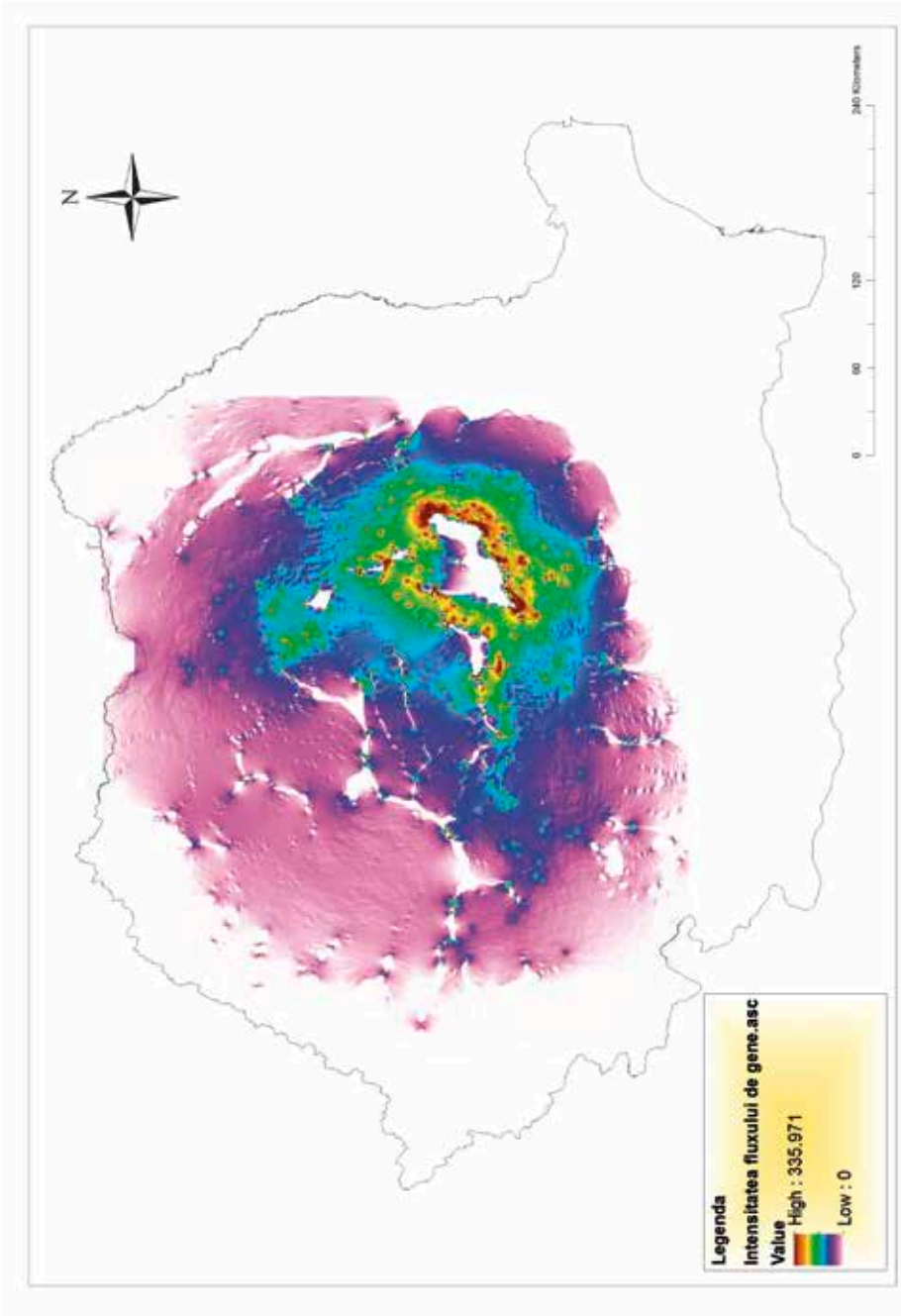


Fig. 49. Influența pantei asupra fluxului de gene
Slope influence on gene flow

Analiza rezistenței pantei la mișcarea urșilor indică prezența unui flux intens de gene în zona sud-estică a țării, situație care este în concordanță cu geomorfologia specifică acestui teritoriu din arealul autohton al ursului.

Atunci când s-a analizat rezistența râurilor mari și a canalelor la mișcarea indivizilor, a rezultat în zona Carpaților de Curbură o intensificare a mișcării indivizilor. În ceea ce privește discontinuitatea, rezultatele coincid cu cele obținute din analiza rezistenței drumurilor la mișcarea indivizilor.

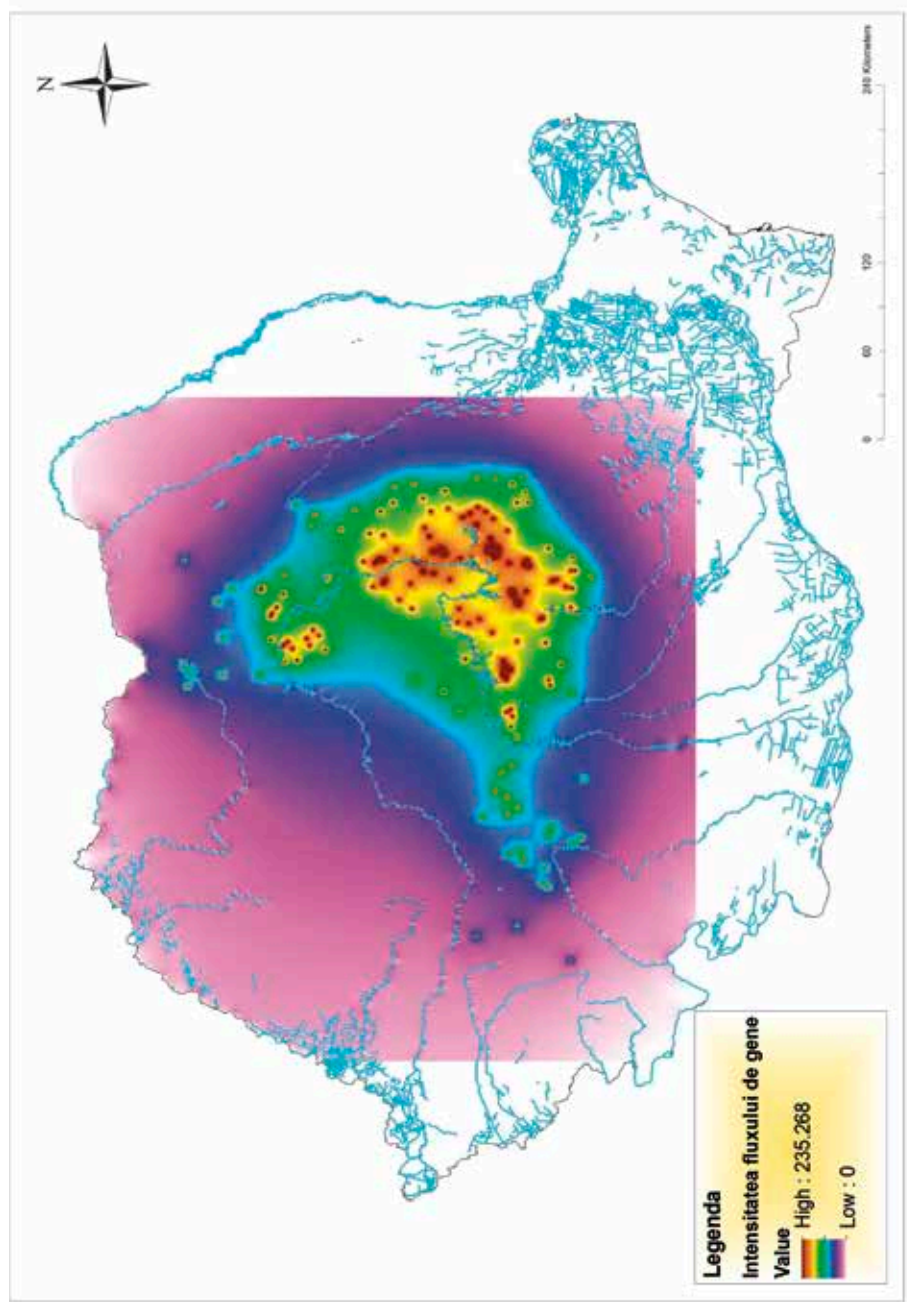


Fig. 50. Influența râurilor mari asupra fluxului de gene
 Rivers influence on gene flow

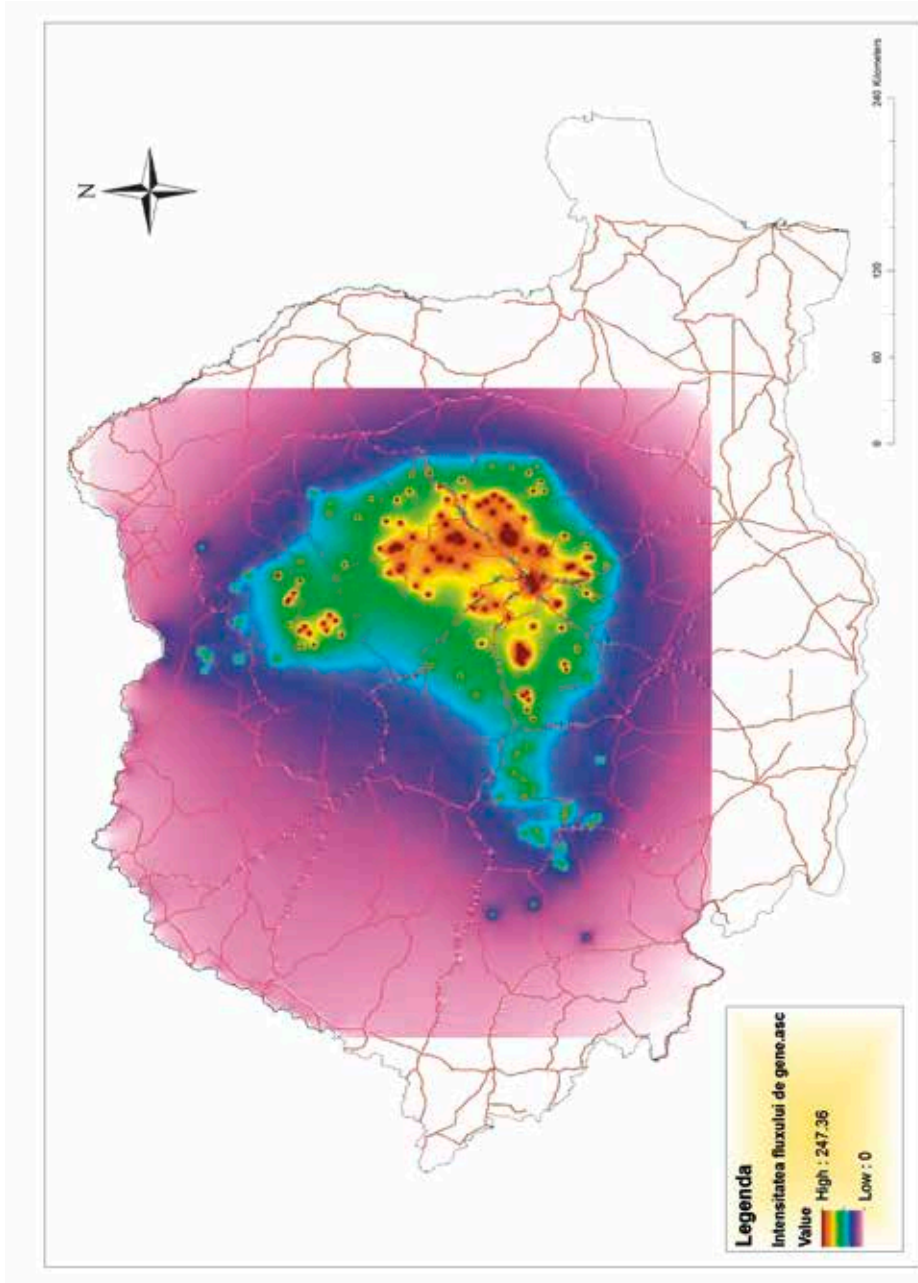


Fig. 51. Influența drumurilor europene și naționale asupra fluxului de gene
European and national roads influences on gene flow

Și în cazul analizei drumurilor se observă un flux de gene intens în Carpații de Curbură (maro închis-portocaliu-galben), în vreme ce în celelalte zone din arealul de distribuție al speciei acesta înregistrează valori medii, redat pe hartă cu ajutorul culorilor verde și albastru. De această dată, la scară mare, apar discontinuități datorate rezistenței drumurilor la mișcarea indivizilor de urs brun.

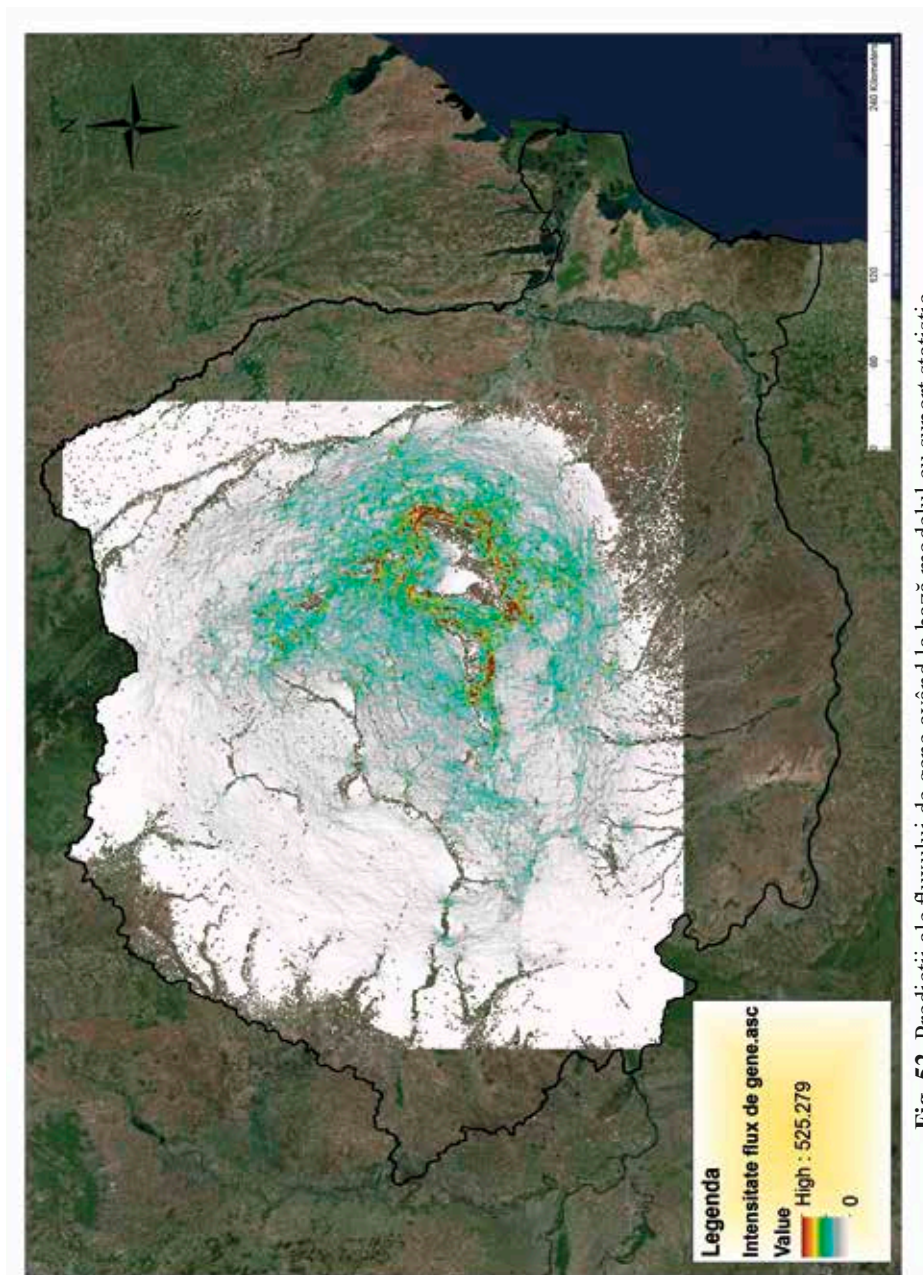


Fig. 52. Predicții ale fluxului de gene având la bază modelul cu suport statistic
Gene flow predictions based on best-supported model

Analiza la scară mică a zonei cu cele mai ridicate valori ale fluxului de gene (Carpații de Curbură) a oferit o rezoluție mai bună privind localizarea rutelor de deplasare utilizate de către indivizi (Figura 53). Astfel, zonele cu intensitate maximă a fluxului de gene sunt evidențiate cu ajutorul culorilor maro-galben-portocaliu, în vreme ce zonele cu intensitate medie sunt redată de culorile verde

și albastru. Culoarea gri redă o valoare scăzută a favorabilității rutelor de mișcare utilizate pentru realizarea schimbului de informație genetică. Rutele favorabile deplasării indivizilor ocolesc orașele Brașov, Sfântu Gheorghe și Făgăraș.

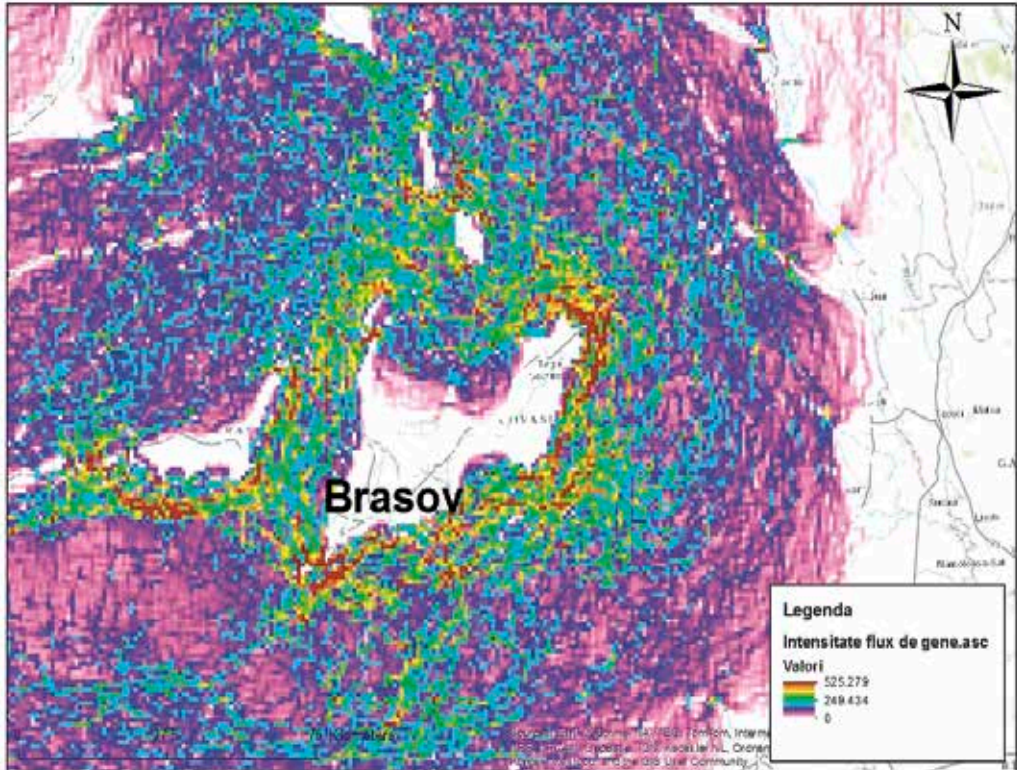


Fig. 53. Fluxul de gene în zona Carpaților de Curbură
Gene flow in the area Carpații de Curbură

Se constată, astfel, că rutele utilizate pentru realizarea schimbului de informație genetică sunt strâns legate de distribuția pădurii (Figura 54). La testarea influenței pădurii asupra mișcării indivizilor, aceasta nu a beneficiat de suport statistic, tocmai pentru că distribuția este una continuă, neîntreruptă pe suprafețe mari, generând rezistență minimă la mișcare la nivel de țară.

La scară mare, în modelul predictiv al fluxului de gene, nu s-au putut identifica discontinuități, de aceea s-a recurs mai departe la analiza la scară mică de-a lungul zonelor de risc identificate în cadrul modelării efectului drumurilor asupra mișcării indivizilor. Infrastructura de transport este documentată ca exercitând cea mai mare influență asupra mișcării carnivorelor mari (Riley et al. 2006), de cele mai multe ori acționând ca o adevărată barieră (Kocijan et al. 2011).

Considerând intensitatea fluxului de gene și a traficului rutier, s-au analizat în detaliu următoarele zone: Valea Prahovei (Figura 55), Valea Oltului (Figura 58), Bistrița – Suceava (Figura 60), Praid – Piatra Neamț (Figura 61), Rucăr-Bran (Figura 62), Cheia – Brașov (Figura 63), respectiv Brașov – Sibiu (Figura 64).

Prima zonă analizată în detaliu a fost cea a Văii Prahovei (DN1), mai exact tronsonul Sinaia-Brașov. Harta predicției mișcării indivizilor în vederea realizării fluxului de gene indică existența a două zone favorabile pentru traversarea infrastructurii de transport (Figura 52): una localizată înainte de orașul Brașov (în zona Timișu de Jos; Figura 53) respectiv cea de-a doua localizată între localitățile Timișu de Sus – Predeal – Azuga (Figura 54). O altă zonă, însă cu o intensitate mult mai redusă a fluxului de gene este poziționată înainte de localitatea Comarnic.

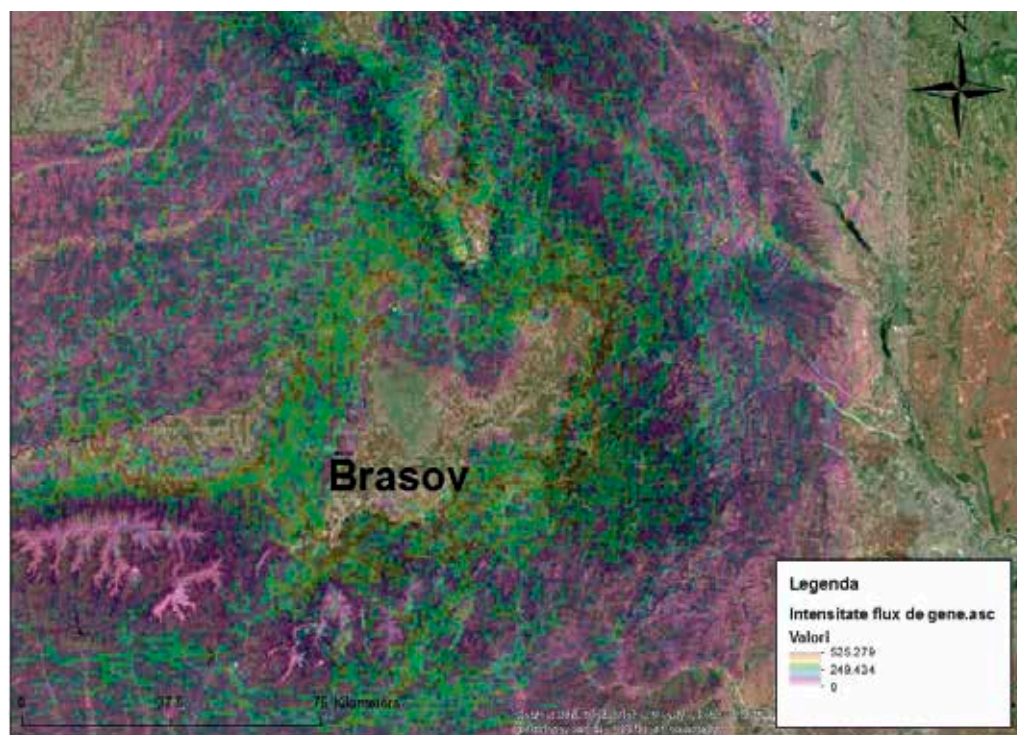


Fig. 54. Fluxul de gene în zona Carpaților de Curbură suprapus peste imaginea satelitară
Gene flow in Carpații de Curbură overlapped on top of satellite image

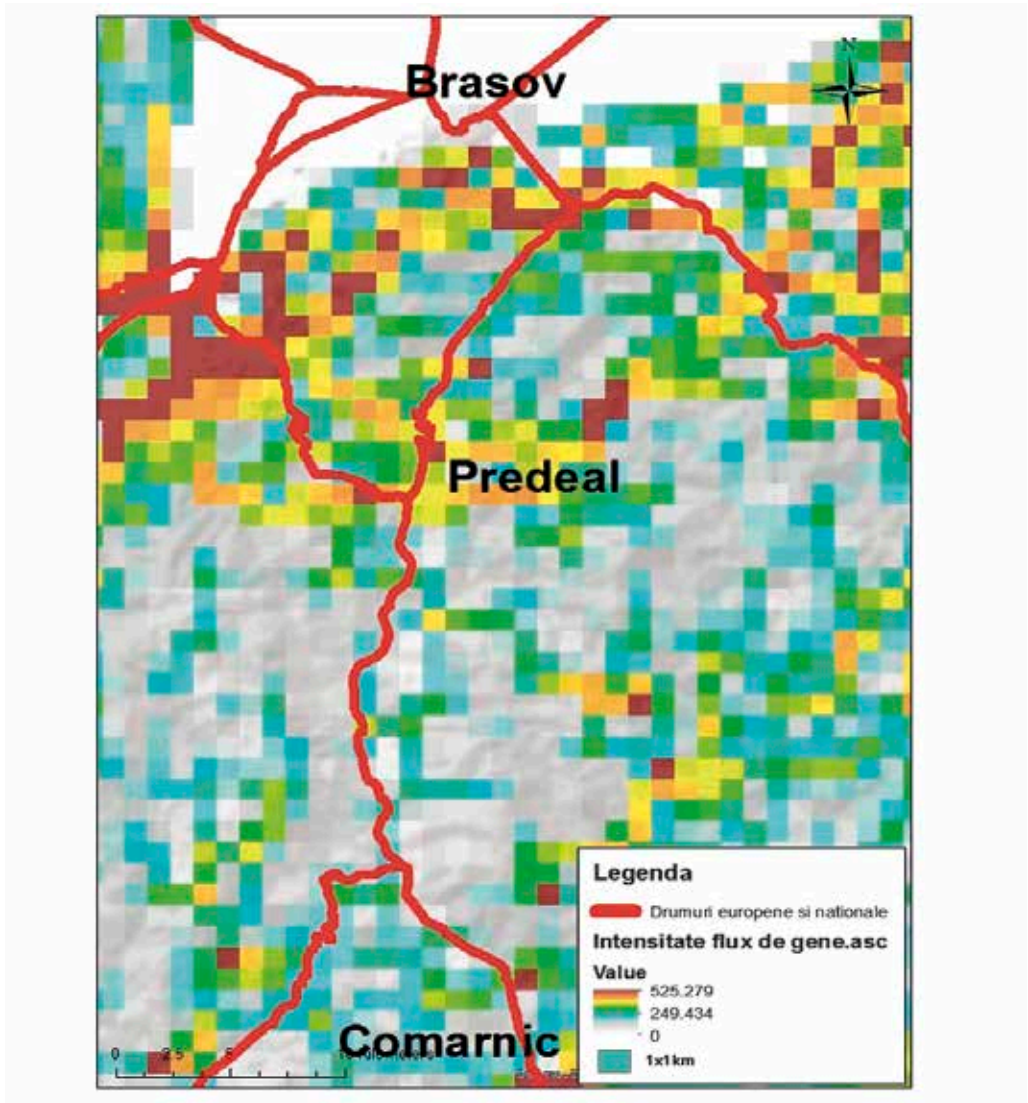


Fig. 55. Modelul predictiv al mișcării urșilor pentru Valea Prahovei
 Predictive model of bear movements for Valea Prahovei

Primul culoar rezultat din modelarea factorilor naturali și antropici care facilitează desfășurarea fluxul de gene pe DN1 este poziționat în zona Brașov-Timișu de Jos. Această zonă se întinde pe o lungime mai mare de 10 km, fluxul de gene reducându-și intensitatea în apropiere de localitatea Timișu de Sus (Figura 56).

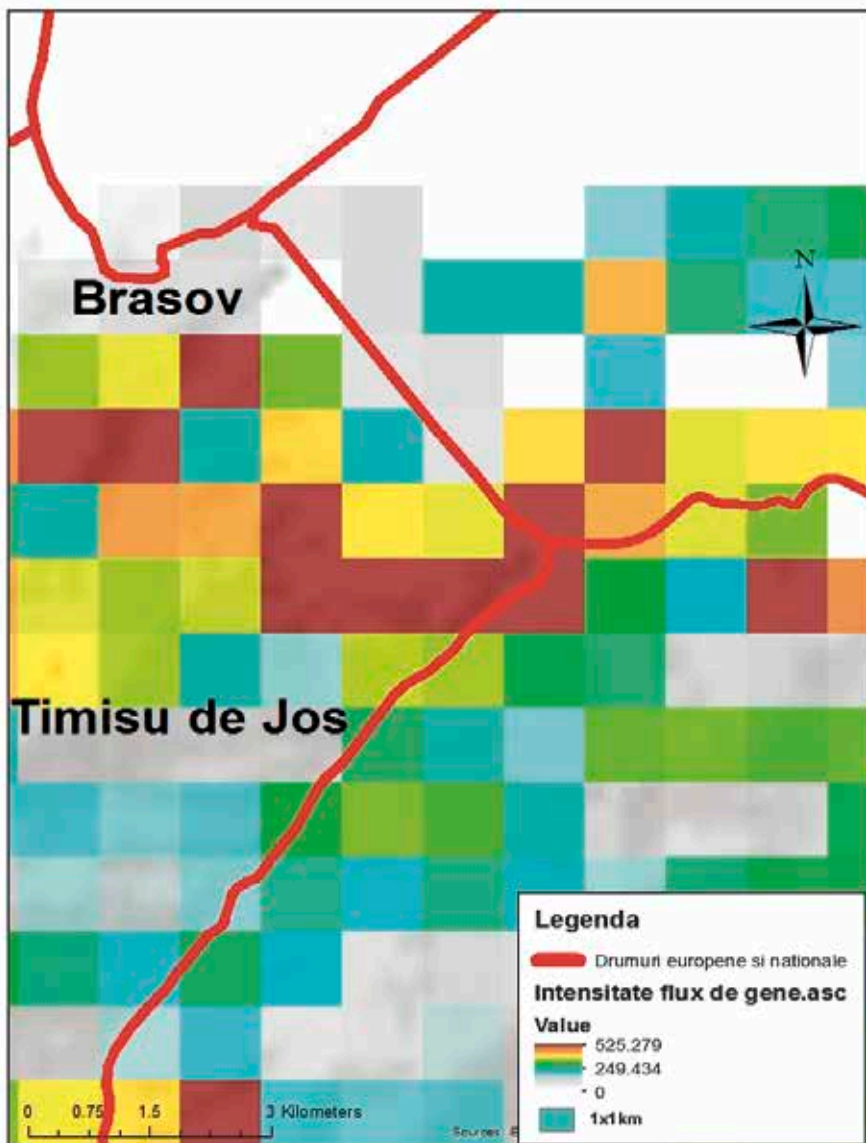


Fig. 56. Modelul predictiv pentru tronsonul Braşov-Timişu de Jos
Predictive model for Braşov-Timişu de Jos segment

Cel de-al doilea culoar identificat, Timişu de Sus-Azuga-Predeal, se întinde pe o lungime mai mare decât cel din tronsonul anterior, prezentând de-a lungul acestuia o intensitate ridicată a fluxului de gene (Figura 57).

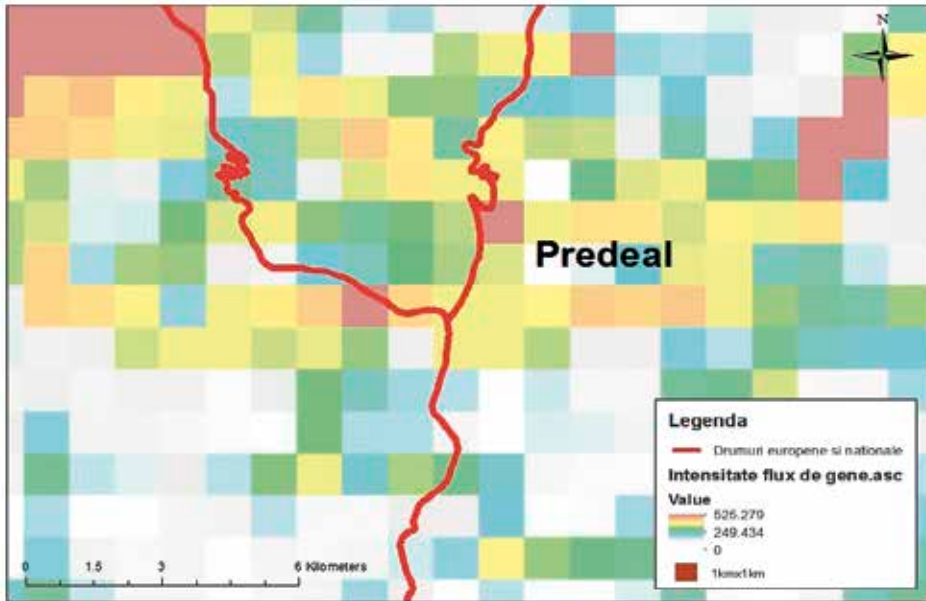


Fig. 57. Modelul predictiv pentru tronsonul Timișu de Sus-Azuga-Predeal
Predictive model for Timișu de Sus-Azuga-Predeal segment

Drumul european ce străbate Valea Oltului are un aport semnificativ în reducerea fluxului de gene dintre indivizii localizați de o parte și de cealaltă a acestuia (Figura 58). Efectul negativ asupra fluxului genic al acestui drum european este amplificat de cel al râului Olt, mai ales din cauza construcțiilor hidrotehnice, a barajelor și a taluzării malurilor, dar și din cauza traficului greu de intensități foarte ridicate. Astfel, se crează un efect cumulativ care contribuie la creșterea costului traversării, respectiv la diminuarea mișcării exemplarelor între cele două subhabitate. Culoarul de trecere localizat în zona localității Tălmăciu (Figura 59), chiar dacă prezintă o intensitate medie a fluxului de gene, se impune a fi protejat, datorită faptului că este unicul de dimensiuni optime identificat în zonă și care asigură legătura dintre Munții Făgăraș și Munții Lotrului, menținând astfel continuitatea habitatelor speciei de-a lungul Carpații Meridionali. Alte zone de intensitate medie, însă de dimensiuni mici, au fost identificate în apropiere de localitățile Brezoi-Călimănești.

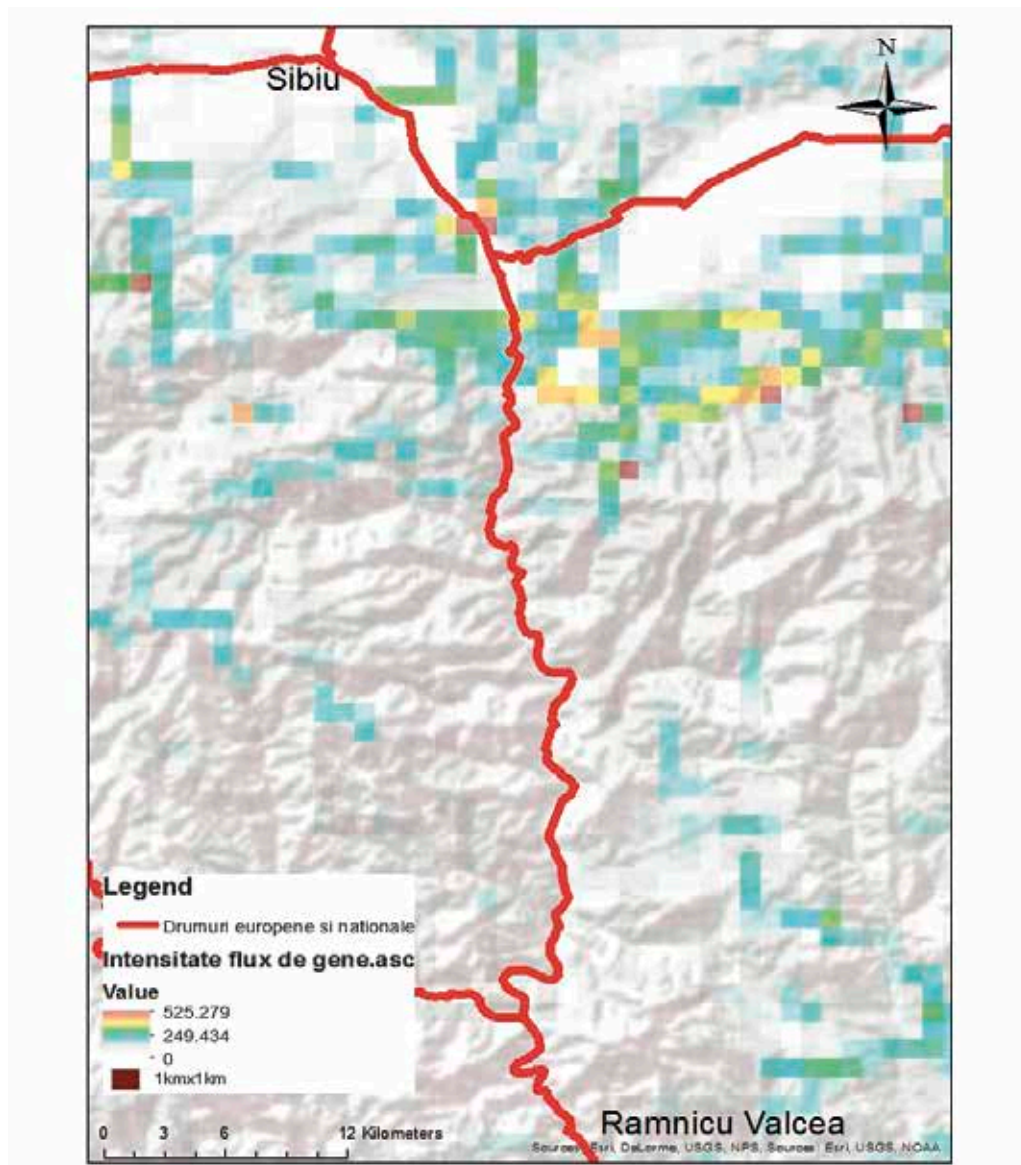


Fig. 58. Modelul predictiv al mișcării urșilor pentru Valea Oltului
Predictive model of bear movements for Valea Oltului

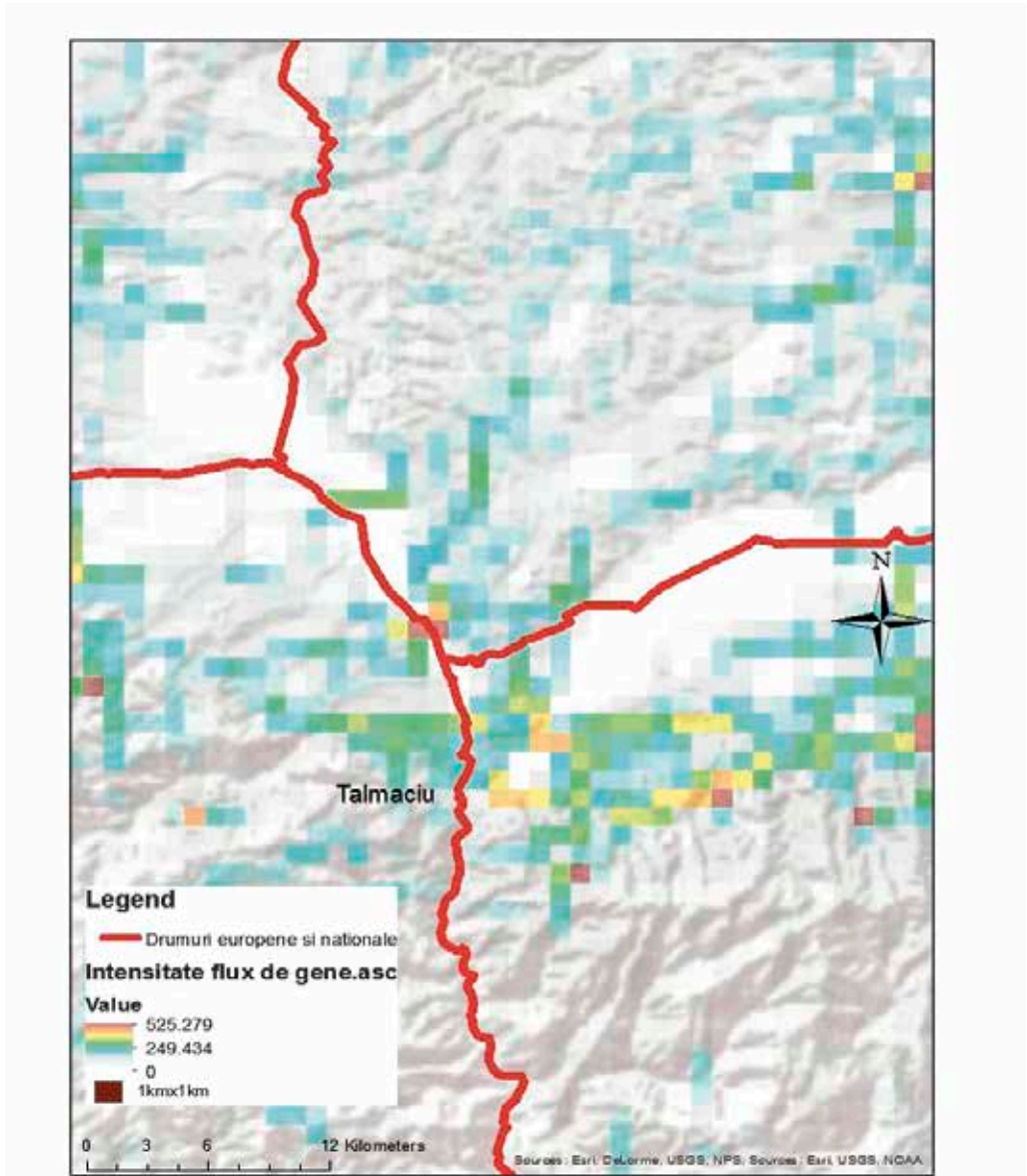


Fig. 59. Modelul predictiv pentru zona Tâlmăciu
 Predictive model for Tâlmăciu area

Drumul european care leagă orașul Bistrița de Suceava (E576), contribuie la diminuarea schimbului de informație genetică dintre indivizii de urs poziționați de o parte și de cealaltă a infrastructurii respective de transport. Astfel, se poate observa o zonă cu favorabilitate mică pentru traversarea infrastructurii, rezultată din modelarea factorilor naturali și antropici (Figura 60). Aceasta străpunge

parțial drumului european amintit; intensitatea fluxului de gene din celule este foarte redusă, iar lățimea acestuia nu asigură favorabilitate pentru traversarea infrastructurii. Antropizarea zonei contribuie, de asemenea, la diminuarea mișcării indivizilor, mai ales ca urmare a zonelor foarte abrupte și a taluzurilor betonate construite în multe dintre zonele învecinate drumului. Această zonă este foarte importantă și din perspectiva asigurării conectivității transfrontaliere a populației de urs, aflându-se destul de aproape de granița cu Ucraina. Pentru o mai bună rezoluție a situației din zonă se impune creșterea numărului de probe și analiza detaliată a situației din teren.

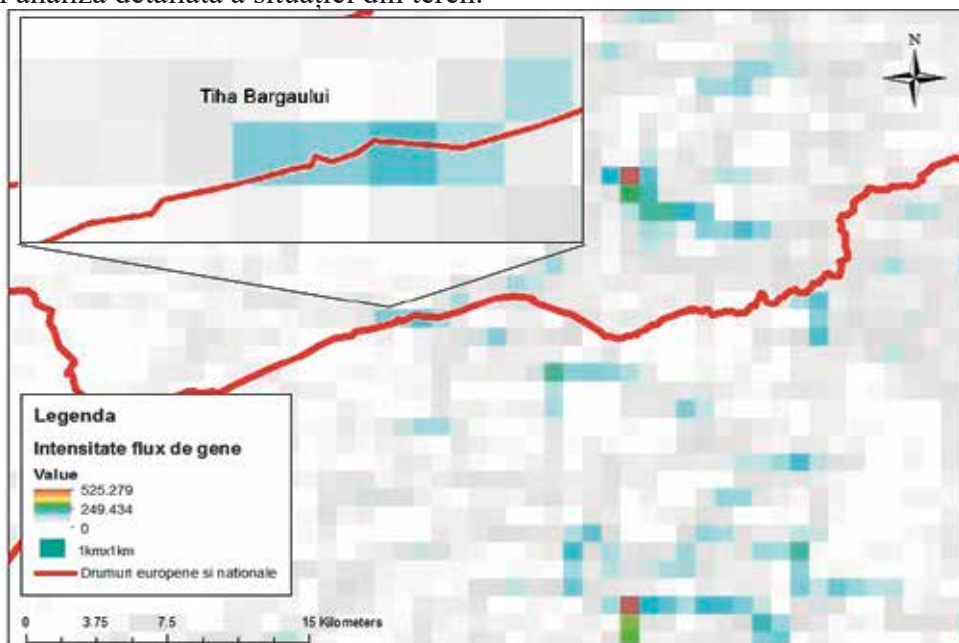


Fig. 60. Modelul predictiv al mișcării urșilor pentru zona Bistrița - Suceava
Predictive model of bear movements for Bistrița – Suceava area

Analiza drumului național 138 (Praid – Piatra Neamț) a indicat un flux de gene redus, localizându-se doar două zone favorabile de traversare a infrastructurii de transport: prima înaintea localității Joseni, iar cea de-a doua zonă după localitatea Gheorgheni (Figura 61). Aceste zone sunt favorabile traversării infrastructurii, pădurea apropiindu-se foarte mult de drum și permițând realizarea mișcării naturale a indivizilor (Ion Micu comunicare personală). De asemenea, de-a lungul acestui drum național s-au identificat și alte culoare înguste, cu intensitate mică a mișcării. De remarcat este că în jurul zonei Lacului Bicăz au fost identificate celule cu intensitate foarte scăzută a fluxului genic. Totuși, drumul analizat este unul unde traficul nu se desfășoară la intensități foarte mari,

de aceea favorabilitatea zonelor pentru mișcarea indivizilor este una ridicată. Trebuie adoptate măsuri în cazul în care se decide construirea unei autostrăzi care să copieze forma drumului național, impunându-se respectarea zonelor favorabile rezultate din modelare.

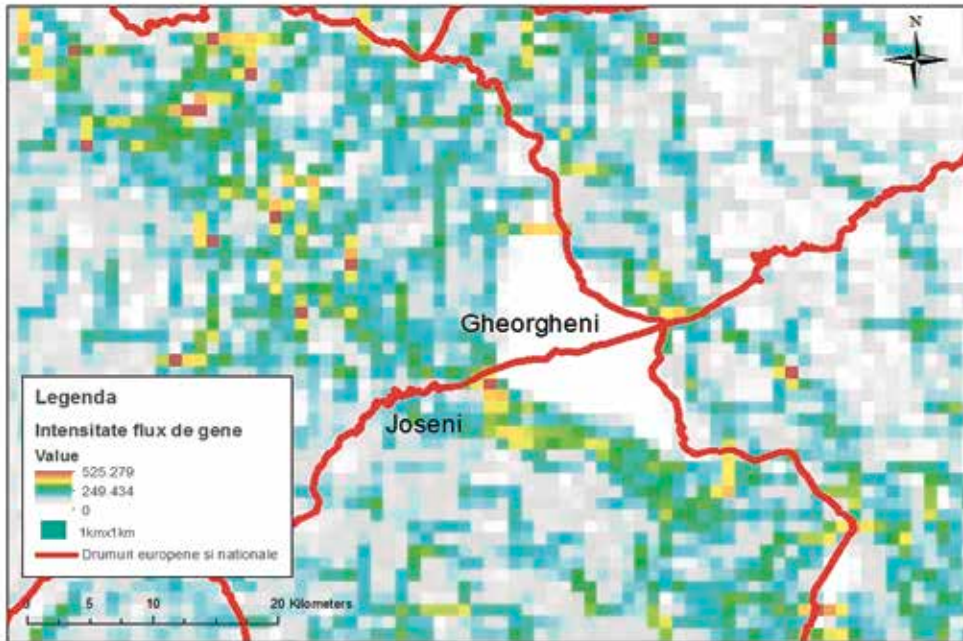


Fig. 61. Modelul predictiv al mișcării urșilor pentru zona Praid – Piatra Neamț
Predictive model of bear movements for Praid – Piatra Neamț area

Un alt drum analizat a fost culoarul Rucăr – Bran, important de altfel din punct de vedere al fragmentării habitatelor speciei, aceasta fiind poziționat între masivele Bucegi și Piatra Craiului. Obstrucționarea mișcării indivizilor de-a lungul acestui drum european poate să conducă la fragmentarea populației, întrerupând schimbul de informație genetică dintre urși din cele două masive.

S-au identificat două zone favorabile de trecere între cele două masive (Figura 62), una localizată în apropiere de localitatea Râșnov, iar cea de-a doua poziționată aproape de localitatea Bran. O potențială zonă de favorabilitate medie este poziționată aproape de localitatea Fundata.

Rezultatele obținute în această zonă sunt similare cu cele obținute în cadrul proiectului PIN-MATRA 2002, de către Maanen et al. 2006, acolo unde s-au determinat **aceleași 3 culoare ecologice** pentru asigurarea conectivității dintre Munții Bucegi și Piatra Craiului.

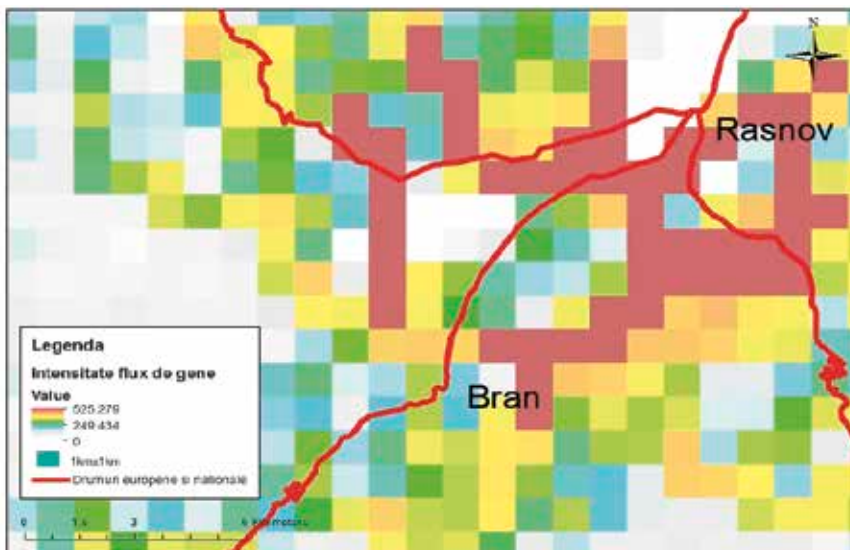


Fig. 62. Modelul predictiv al mișcării urșilor pentru culoarul Rucăr - Bran
 Predictive model of bear movements for Rucăr - Bran

O altă zonă analizată a fost drumul ce leagă localitățile Cheia de Brașov (DN1A), alternativa drumului intens circulat de pe Valea Prahovei, și care, periodic, înregistrează trafic greu intens. Analiza a indicat faptul că fluxul de gene se desfășoară de-a lungul drumului, prezentând foarte puține zone nefavorabile de străpungere a infrastructurii (Figura 63).

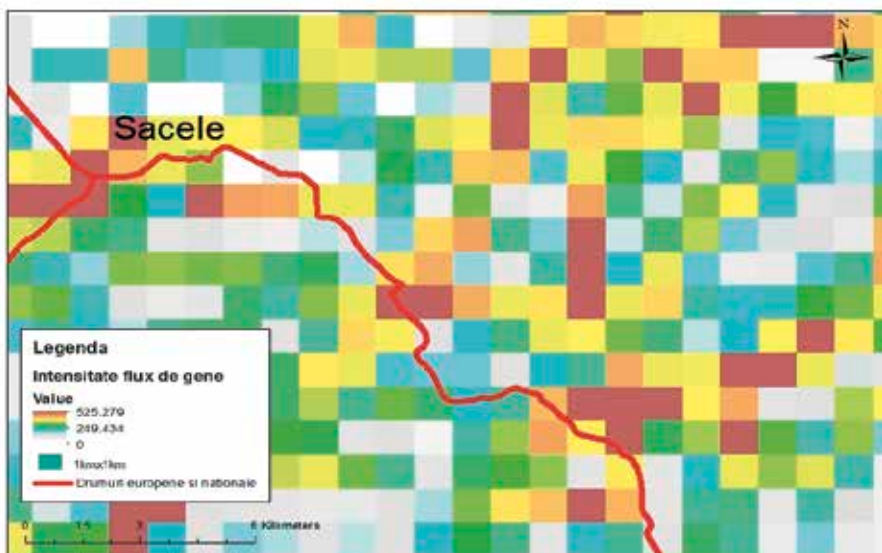


Fig. 63. Modelul predictiv al mișcării urșilor pentru Cheia – Brașov
 Predictive model of bear movements for Cheia – Brașov

S-a analizat de asemenea drumul național și european care leagă orașul Brașov de Sibiu și s-au identificat 3 culoare favorabile traversării infrastructurii. Primul culoar este localizat în zona Perșani și prezintă o favorabilitate ridicată, în vreme ce al doilea culoar are dimensiuni reduse și este localizat în zona localității Voila. Cel de-al treilea culoar cu favorabilitate ridicată pentru deplasarea indivizilor de urs brun este poziționat între localitățile Viștea de Jos și Arpașu de Jos (Figura 64). Se impune desemnarea unor coridoare de trecere în aceste zone menționate, mai ales datorită traficului intens care se desfășoară pe acest drum european. În perspectiva realizării autostrăzii care leagă Brașov de Sibiu trebuie să se aibă în vedere asigurarea menținerii conectivității populației de urs utilizând coridoarele rezultate din modelare.

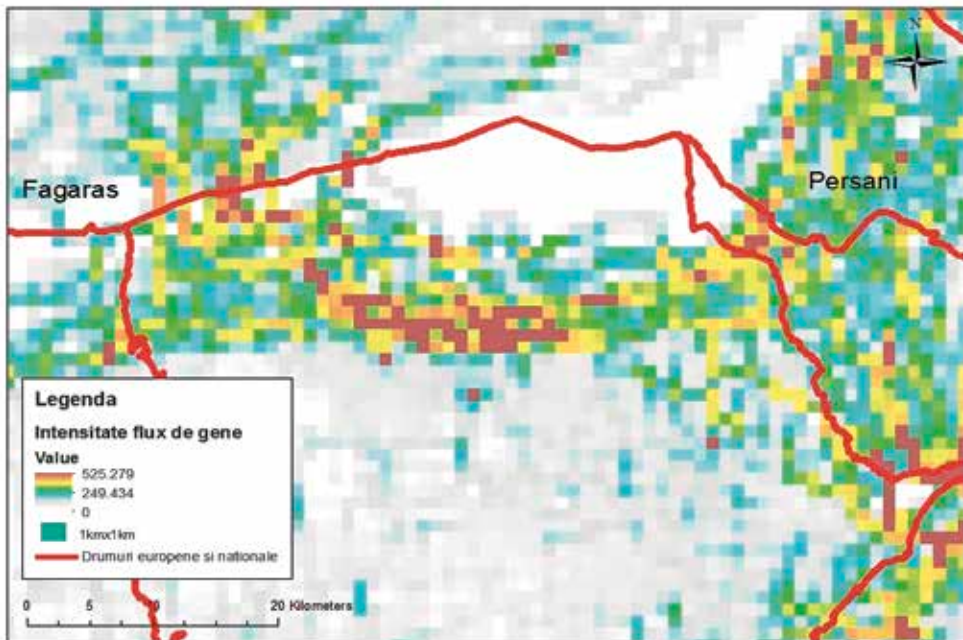


Fig. 64. Modelul predictiv al mișcării urșilor pentru Brașov - Sibiu
Predictive model of bear movements for Brașov - Sibiu

Actualmente, infrastructura de transport cu trafic intens din România este compusă majoritar din drumuri europene și naționale, înregistrând un număr redus de autostrăzi, majoritatea poziționate în afara arealului de distribuție al ursului (Figura 65). Programul de dezvoltare a României prevede ca în perioada următoare să se extindă infrastructura de transport de mare viteză la nivel național, urmând ca de cele mai multe ori autostrăzile să se construiască în vecinătatea unor drumuri naționale și/sau europene (Figura 66).

Hărțile generate pentru autostrăzile existente și pentru programul

de dezvoltare a infrastructurii au rolul de oferi o imagine în ceea ce privește amenințarea populației de urs brun din România, prin limitarea deplasării indivizilor între arealele situate de-o parte și de alta a acestor căi de transport.



Fig. 65. Infrastructura compusă din autostrăzi în România în 2013-2014
Highway infrastructure in Romania in 2013-2014



Fig. 66. Programul de dezvoltare al autostrăzilor în perioada 2014-2022
Development program of highway infrastructure for 2014-2022

4.1.2.4. Validarea modelului predictiv al fluxului de gene

În vederea validării modelului predictiv al fluxului de gene în populația de urs din România, s-a suprapus setul de date rezultat în studiile anterioare de telemetrie (desfășurate în cadrul INCDS Brașov) peste harta rezultată din analiza landscape genetics pentru zona Sinaia – Brașov. S-a selectat Valea Prahovei (DN1/E60) deoarece cercetările de telemetrie desfășurate anterior au fost localizate în teritoriul respectiv. DN1 este, de asemenea, un subiect important în ceea ce privește intensitatea traficului rutier, reprezentând unul dintre cele mai circulante drumuri la nivel național; mai mult, în viitorul apropiat pe aceeași vale urmează să se construiască și o autostradă.

Astfel, **toți urșii** monitorizați prin telemetrie au ales să traverseze DN1/E60 utilizând celulele indicate de modelul predictiv ca având o intensitate de la medie la ridicată a fluxului de gene (culori de la verde la maro). Aceste rezultate validează modelul predictiv al fluxului de gene în populația de urs din România, indicând rezistența ridicată la mișcarea indivizilor a drumurilor, coroborată cu a râurilor mari (plus canale, lacuri și construcții hidrotehnice), respectiv utilizarea pentru efectuarea deplasării a pantelor mici și a expozițiilor apropiate de cea nord-estică.

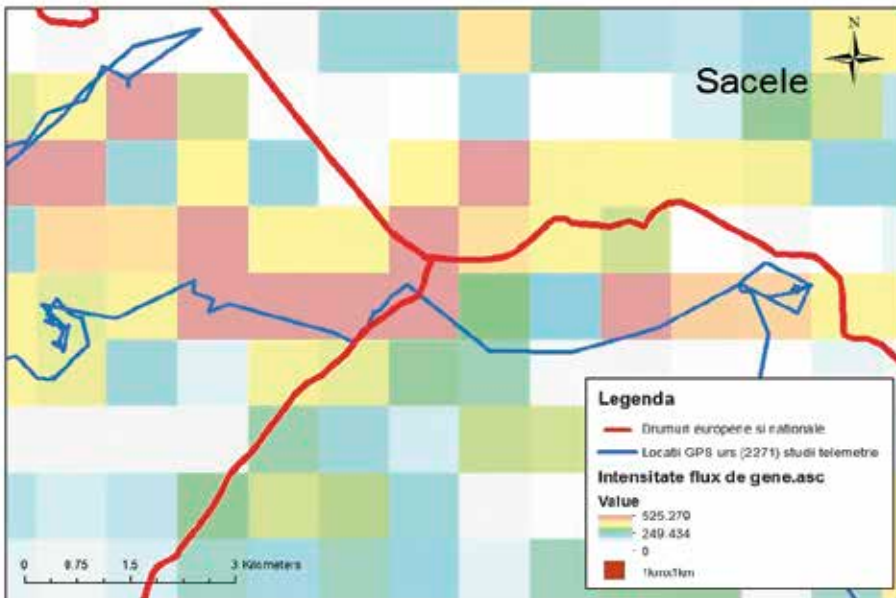


Fig. 67. Modelul predictiv și ruta de mișcare (locații GPS colar 2271) pentru culoarul Brașov-Timișu de Jos
 Predictive model and bear movement path (GPS locations collar: 2271) for Brasov-Timisu de Jos corridor

Așa cum se poate observa în Figura 67, ursul monitorizat cu colarul 2271 a utilizat pentru traversarea DN1 în zona Brașov-Timișu de Jos, celule de intensitate de la medie la mare (verde-portocaliu-marou) ale modelului predictiv al fluxului genic.

Un al doilea exemplar de urs monitorizat cu ajutorul colarului 2274 a traversat drumul național/european de mai multe ori, într-unul dintre cazuri chiar prin aceeași locație ca și exemplarul anterior (2271) (Figura 68). În celelalte cazuri ale traversării infrastructurii, exemplarul a utilizat celule ale modelului predictiv de intensitate medie.

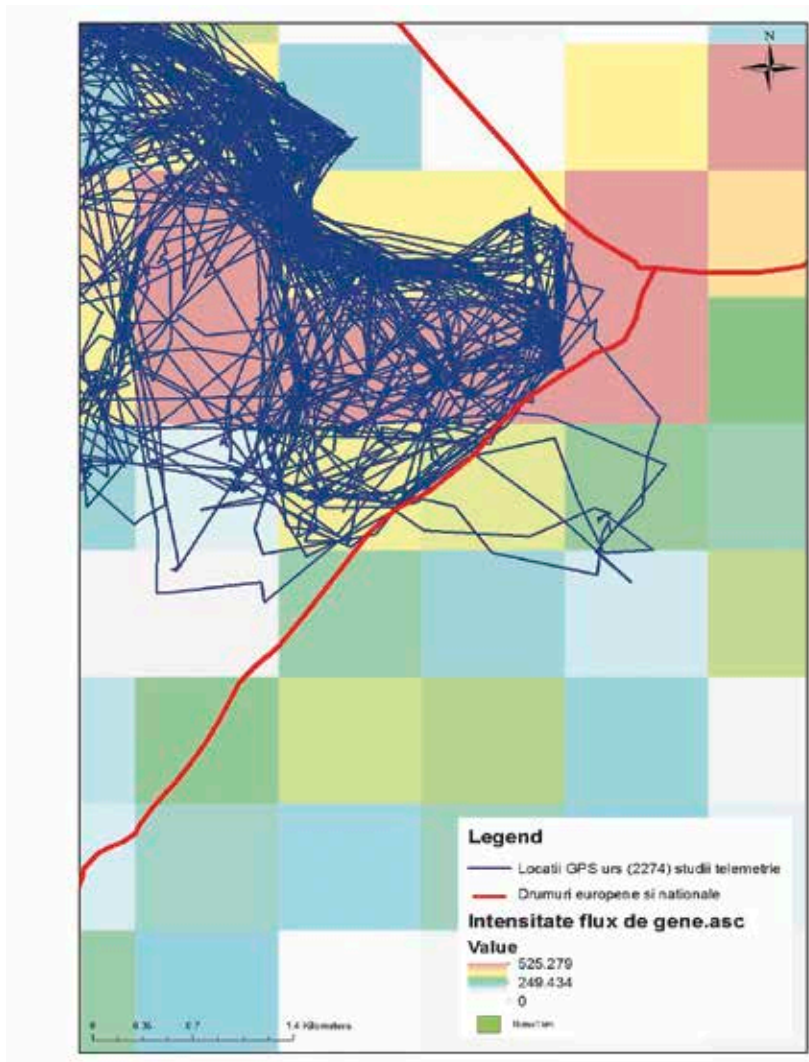


Fig. 68. Modelul predictiv și ruta de mișcare (locații GPS colar 2274) pentru culoarul Brașov-Timișu de Jos
 Predictive model and bear movement path (GPS locations collar: 2274) for Brasov-Timișu de Jos corridor

În ceea ce privește culoarul localizat între localitățile Timișu de Sus-Predeal-Azuga, s-au identificat două exemplare de urs care au utilizat pentru mișcare celule ale modelului predictiv cu valori ale intensității de la medii la mari. Unul dintre exemplarele de urs (2271) a așteptat timp de 8 ore consecutive (interval indicat de orele la care s-au preluat locațiile GPS) pentru a traversa drumul național (a se vedea locațiile colorate cu albastru foarte apropiate de partea stângă a drumului), reușind să traverseze doar către dimineața zilei următoare (Ramon Jurj, comunicare personală), utilizând culoarul modelului predictiv din zona Predeal-Azuga (Figura 69). Acest interval de așteptare foarte lung oferă indicii privind existența unui trafic intens atât pe parcursul zilei, cât și al nopții. Așa cum se poate observa, ursul monitorizat cu ajutorul colarului 2272 (culoare roz) a fost foarte aproape de traversarea DN1 în zona Timișu de Sus-Predeal, utilizând celule cu intensitate medie spre ridicată.

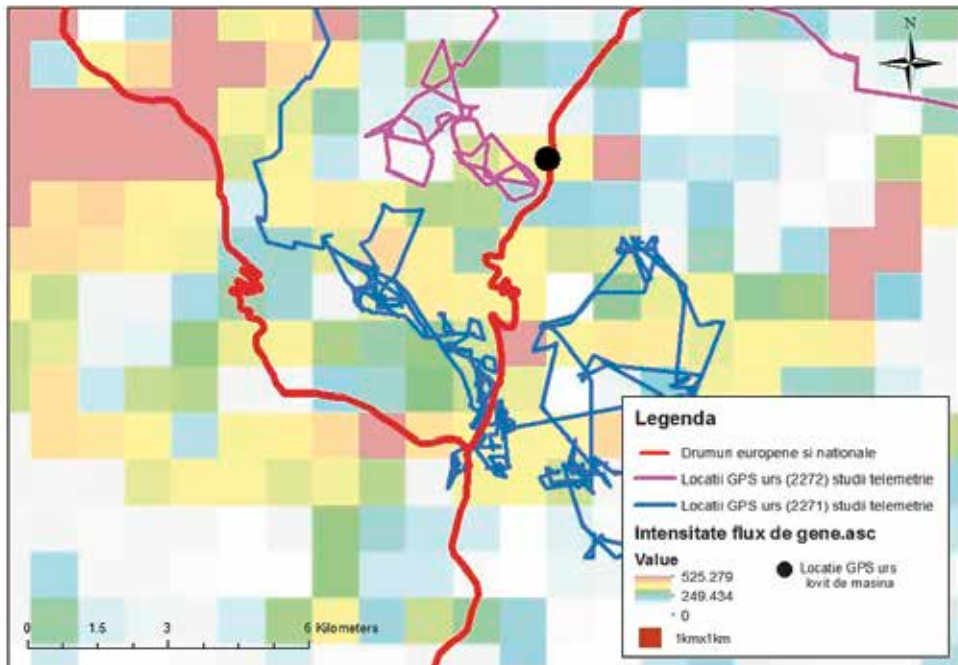


Fig. 69. Modelul predictiv și ruta de mișcare (locații GPS colar 2271; 2272) pentru culoarul Timișu de Sus-Predeal-Azuga
 Predictive model and bear movement path (GPS locations collars: 2271; 2272) for Timișu de Sus-Predeal-Azuga corridor

Aceste zone identificate în urma modelării de-a lungul DN1, trebuie să fie analizate în teren și confirmate, în vederea desemnării unor coridoare de trecere. Pentru validarea modelului de predicție a fluxului de gene s-au utilizat și

datele preluate de la urși monitorizați în zona Cheia-Brașov (proiect Nucleu 2009-2011). Astfel, doi dintre urșii monitorizați cu ajutorul colarelor GPS (2271; 2272) au traversat DN1A utilizând același culoar de trecere (Figura 70).

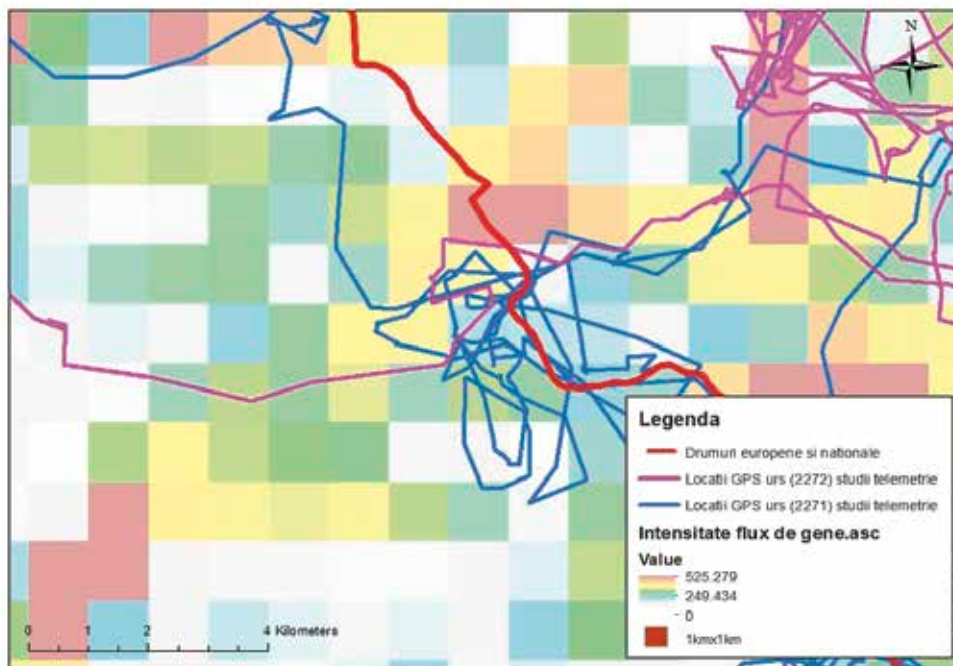


Fig. 70. Modelul predictiv și ruta de mișcare (locații GPS colar 2271; 2272) pentru culoarul Cheia-Brașov
 Predictive model and bear movement path (GPS locations collar: 2271; 2272) for Cheia-Brașov corridor

S-a analizat, de asemenea, culoarul Rucăr-Bran, iar pentru validarea modelului s-au utilizat și datele preluate de la urși monitorizați prin telemetrie în această zonă (Proiect Nucleu 2009-2011). Astfel, unul dintre urșii monitorizați cu ajutorul colarelor GPS (2276) a traversat culoarul Rucăr-Bran utilizând o zonă de intensitate medie a fluxului de gene rezultată din modelare, utilizând coridorul de trecere localizat aproape de localitatea Bran (Figura 71). Conform modelului predictiv al fluxului genic, culoarul Rucăr-Bran este încă favorabil pentru mișcarea urșilor, propunându-se însă adoptarea unor măsuri de protecție a culoarelor de trecere din zona Bran și Râșnov, în contextul expansiunii zonelor intravilane. Se impune, astfel, interzicerea extinderii spațiului intravilan fără menținerea unor zone tampon care pot fi utilizate de către specie pentru deplasare.

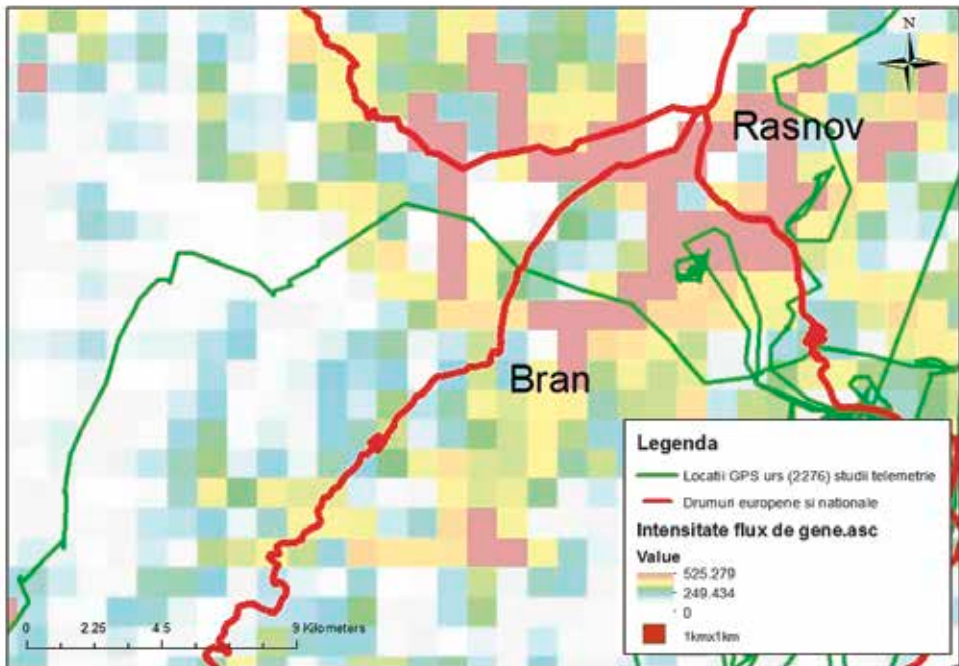


Fig. 71. Modelul predictiv și ruta de mișcare (locații GPS colar 2276) pentru culoarul Rucăr-Bran
 Predictive model and bear movement path (GPS locations collar: 2276) for Rucăr-Bran corridor

Un exemplar de urs monitorizat prin telemetrie a traversat drumul european ce leagă localitățile Bistrița și Suceava utilizând singurul culoar de trecere identificat în această zonă, modelul predictiv a indicând o intensitate scăzută pentru mișcarea naturală a indivizilor (Figura 72). S-a validat, astfel, singurul culoar favorabil de trecere în această zonă. Este foarte important de subliniat faptul că modelul predictiv a detectat existența unui singur culoar, iar acesta a fost utilizat pentru traversarea infrastructurii. Acest lucru semnifică puterea mare de predicție a rutelor naturale utilizate de către indivizii de urs.

În urma analizei datelor de telemetrie obținute de la Parcul Național Cozia (proiect „Măsurile integrate de management pentru cunoașterea și protejarea valorilor PN Cozia”) se constată faptul că din cele 3 exemplare de urs monitorizate nici unul nu a traversat drumul european (Figura 73). Acest rezultat accentuează problematica Văii Oltului, subliniind încă o dată efectele negative exercitate de traficul intens care se desfășoară în zonă (Cornel Buduleci comunicare personală).

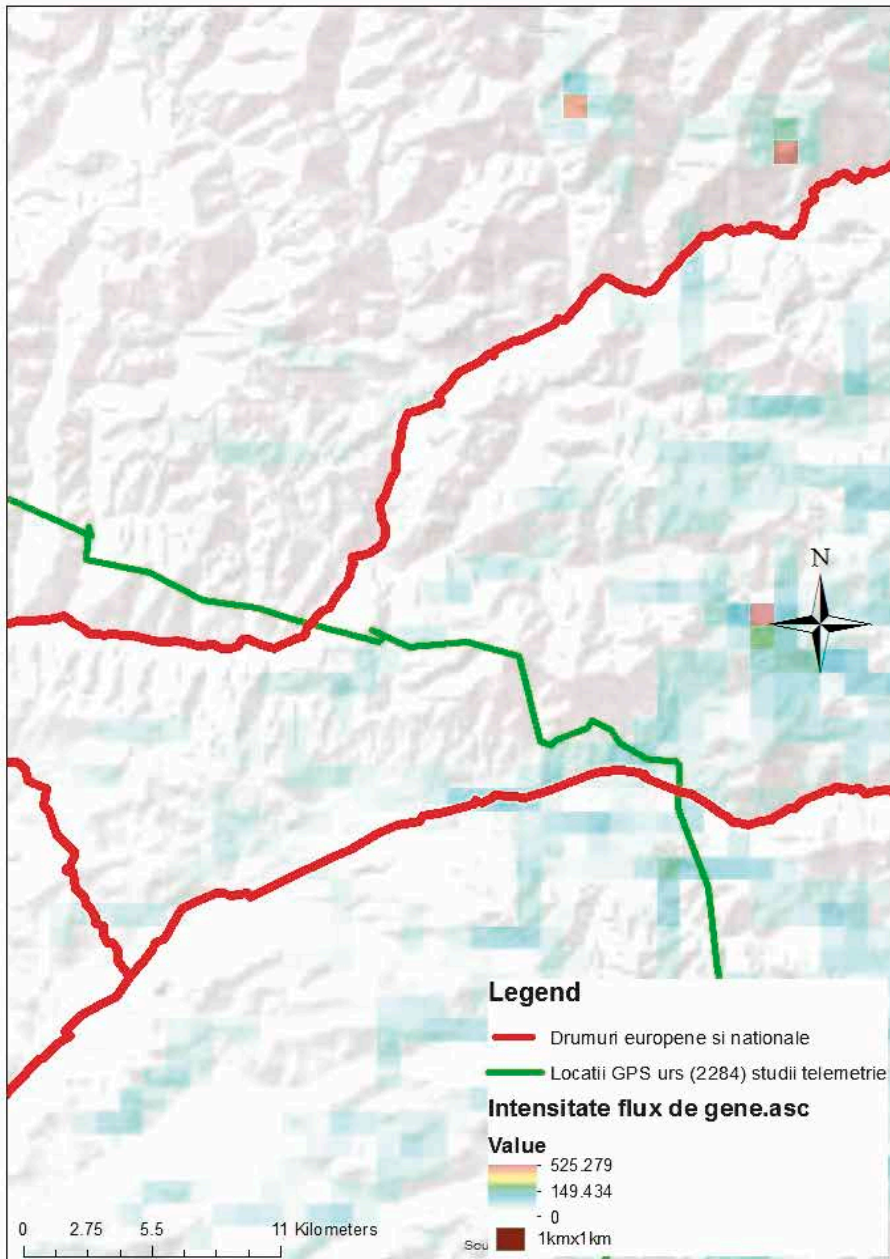


Fig. 72. Modelul predictiv și ruta de mișcare (locații GPS colar 2284) pentru culoarul Bistrița-Suceava
 Predictive model and bear movement path (GPS locations collar: 2284) for Bistrița-Suceava corridor

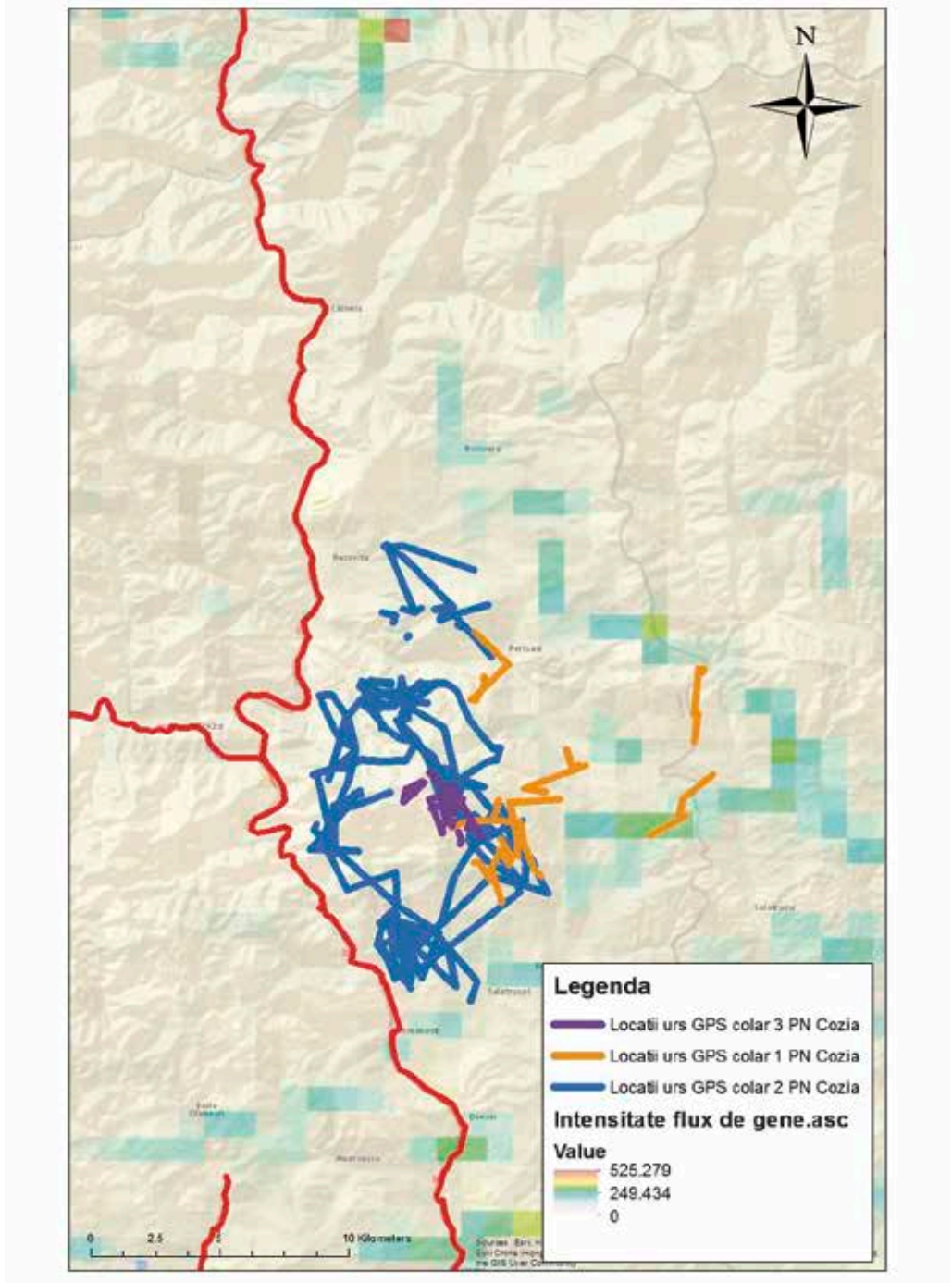


Fig. 73. Modelul predictiv și ruta de mișcare (locații GPS colar 1; 2; 3) pentru Valea Oltului
Predictive model and bear movement path (GPS locations collars: 1; 2; 3) for Valea Oltului

Analizând cele menționate anterior se validează modelul predicției fluxului de gene, deplasarea indivizilor pentru desfășurarea schimbului de informație genetică realizându-se de-a lungul unor pante mici și utilizând expoziția nord-estică. Bineînțeles, acestea sunt corelate și cu gradul de acoperire cu vegetație forestieră, specia beneficiind la nivel național de habitate nefragmentate pe suprafețe mari. Cei doi parametri menționați anterior facilitează schimbul de gene dintre habitatele ocupate de urși, în vreme ce drumurile europene și uneori și naționale, fiind intens circulate, coroborate cu existența râurilor mari, reduc intensitatea fluxului genic.

4.1. Discuții

Parametrii genetici și structura populațională

Referitor la *urșii habitați*, parametrii genetici analizați pentru tot eșantionul de probe recoltate au indicat valori ridicate ale diversității genetice, însă sensibil mai mici decât cele obținute în studiile anterioare (Zachos et al. 2008; Straka et al. 2012). Totuși, nu s-au detectat indicii ale prezenței fenomenului de cosangvinizare, datorită dispersiei masculilor.

Analiza bayesiană implementată pentru întreg eșantionul (*urșii nehabitați* și *cei habitați*) a indicat existența a două grupuri genetice în populația de urs din România. Pe harta distribuției clusterelor genetice, s-a localizat centrul de greutate al unui grup în zona de unde s-au prelevat probe de la *urșii habitați*, celălalt grup fiind constituit de *urșii nehabitați*. Explicația diferențierii genetice a grupului de urși *habitați*, pentru care se conturează o structurare genetic familială, rezidă din faptul că aceste exemplare sunt reprezentate preponderent din mame și descendenți ai acestora, care au dobândit comportamentul de suplimentare a hranei cu resturi menajere depozitate în zona periferică a localităților din teritoriul Brașov-Valea Prahovei. Totuși, această împărțire în cele două grupuri nu a prezentat suport statistic atunci când s-a analizat valoarea logaritmului probabilității și curba oscilațiilor valorii ΔK , motiv pentru care, în final, s-a respins ipoteza împărțirii populației de urs din România în două clustere genetice bine individualizate.

În cadrul celei de-a doua modalități de testare a bazei de date, în care s-au exclus markerii genetici care au indicat prezența alelelor nule, a rezultat împărțirea populației de urs din România în 3 grupuri genetice. Acest rezultat a fost, de asemenea, infirmat de către analiza statistică a valorii logaritmului probabilității, așa încât a fost infirmată ipoteza conform populația de urs din România este divizată în trei grupuri genetice clar diferențiate.

Testarea gradului de înrudire a indivizilor din întregul eșantion și analiza GIS a provenienței acestora a indicat prezența unor linii înrudite a urșilor habitați. Analiza *a priori* a deformării rezultatelor obținute se bazează atât pe influența gradului de înrudire a urșilor habitați, cât și pe cea a markerilor genetici care prezintă alele nule.

Analiza comparativă a urșilor habitați și a celor din liber din zona Valea Prahovei - Brașov a indicat o diversitate genetică mai scăzută pentru primul eșantion. De asemenea, acesta a înregistrat valori mai scăzute și pentru numărul de alele, oferind indicii legate de prezența unui număr mai ridicat de homozigoți. În urma aplicării testelor pentru compararea valorilor diversității genetice ale celor două subpopulații ipotetice s-au obținut valori nesemnificative, diferențierea acestora nefiind suportată din punct de vedere statistic. Aceasta sugerează faptul că fluxul genic dintre cele două subpopulații ipotetice există, valorile medii diferite ale heterozigoției așteptate fiind influențate de prezența structurii familiale a exemplarelor habituate. Efectele se resimt în diminuarea numărului de alelele specifice în grupul urșilor habitați, comparativ cu cei nehabitați, unde numărul ridicat al acestora indică prezența fluxului genic și a structurii panmictice. Gradul de înrudire al urșilor habitați reprezintă o amenințare asupra echilibrului genetic, pe termen lung existând pericolul apariției de exemplare degenerate, ca urmare a consangvinizărilor repetate.

Este important de subliniat faptul că urșii habitați și-au mărit efectivele în decursul ultimelor două decenii; tocmai de aceea rezultatele obținute sunt îngrijorătoare. Se impune, astfel, adoptarea unor măsuri de management prin care să se evite activarea și manifestarea comportamentului oportunist al urșilor (eng. habituation).

Excluzând datele genetice rezultate pentru urșii habitați, a rezultat că populația de urs din România înregistrează la nivel global una dintre cele mai ridicate valori ale diversității genetice (Cotovelea et al. 2013). Rezultatele obținute în prezentul studiu sunt similare cu cele anterioare rezultate din cercetările aplicate la nivel populațional de către Zachos et al. (2008) și Straka et al. (2012), dar determinările acestora s-au bazat pe un număr mult mai mic de probe. În cadrul studiilor enumerate a rezultat o singură populație, sugerând că de-a lungul Carpaților fluxul de gene este neîntrerupt și împerecherea indivizilor are loc randomizat.

De remarcat este faptul că excluderea urșilor habitați a înregistrat efecte asupra mediei heterozigoției observate, rezultând o diversitate genetică mai ridicată cu 5 procente. În cadrul acestui studiu s-a identificat un număr de alele mai mare decât în studiile anterioare, sugerând astfel faptul că eșantionul mai mare de probe analizate a condus către identificarea cu mai mare precizie a valorii

reale.

Absența structurării populaționale reflectă existența unei singure populații și a unui flux de gene neîntrerupt, rezultat care a prezentat suport statistic când s-a analizat valoarea logaritmului probabilității și histograma rezultată din analiza bayesiană.

Rezultatele obținute evidențiază faptul că, la nivel național, habitatul necesar existenței populației de urs nu a suferit modificări majore, nefiind fragmentat pe suprafețe mari, care în timp ar fi putut genera separarea în grupuri genetice. Acest rezultat nu este singular. Astfel, dintr-un studiu întreprins de Kocijan et al. (2011) pe populația de urs din Croația a rezultat, de asemenea, absența substructurării populației, confirmându-se prezența fluxului de gene continuu. Același autor a subliniat importanța menținerii conectivității habitatelor atunci când se proiectează dezvoltarea infrastructurii de transport și a oferit exemplul concret al implementării cu succes a măsurilor de atenuare a impactului acestora în Croația. Astfel, s-a asigurat menținerea unei populații continue și viabile, prin construirea unor puncte de trecere (poduri verzi), prin construirea de tuneluri și prevederea mai multor zone cu viaducte de-a lungul autostrăzii, în zonele indicate ca având flux de gene intens. Un studiu recent a arătat că în medie 1.56 urși utilizează construcțiile (poduri verzi, viaducte etc.) pentru a traversa autostrada, prin construcțiile dintr-o regiune centrală, cu flux de gene intens (Kusak et al. 2009). De asemenea, studiile de telemetrie au indicat că urșii monitorizați utilizează în cadrul home-range-ului ambele părți ale autostrăzii (Jerina et al. 2013).

Acest model de management ar trebui adoptat și în România, înainte de construirea sistemului de autostrăzi, pentru a evita substructurarea populației de urs în linii genetice.

În ceea ce privește istoricul speciei în România, măsurile de management aplicate în trecut au contribuit la menținerea unei singure populații; mărirea acesteia nu a scăzut niciodată sub 800 de indivizi (Ionescu 1999), facilitând astfel schimbul de informație genetică; măsurile de strictă protecție adoptate în trecut pe parcursul a câtorva decenii au contribuit la creșterea efectivelor de urs brun până la un maxim de 8000 de indivizi, estimați la sfârșitul anilor '80 (Ionescu 1999). În deceniul anterior atingerii maximumului populațional, în urma prevederilor legislative, au fost inițiate programe de reintroducere, în cadrul lor capturându-se indivizii din diferite regiuni, care s-au împerecheat în țarcuri, după care s-a recurs la eliberarea lor în sălbăticie (zona Munților Făgăraș) (BMP 2006).

Izolarea prin distanță

Rezultatele similare obținute prin aplicarea celor două metode diferite de analiză (STRUCTURE și TESS) oferă certitudinea determinării corecte a structurii populaționale. Totuși, acestea nu oferă indicii despre schimbul de gene desfășurat la nivel de individ și nici despre influența factorilor antropici și naturali asupra mișcării indivizilor. Aceste informații au fost facilitate de metodele specifice de evaluare oferite de analiza de tip landscape genetics.

Astfel, rezultatele testării izolării prin distanță, obținute în urma aplicării testului și a corelogramei Mantel, au indicat apariția unui semnal foarte slab al prezenței acestui fenomen atunci când s-a analizat toată populația de urs. Ca atare, diferențierea genetică a indivizilor nu reprezintă doar un produs al distanțelor geografice, aceasta fiind explicată și de influența factorilor naturali și antropici.

Un semnal mai puternic s-a obținut atunci când s-a recurs la analiza separată pe sexe. Fenomenul izolării prin distanță la femele a fost detectat pentru probele din clasa de distanță mai mică de 14 km. Testul autocorelației aplicat pentru eșantionul constituit de femele a indicat o valoare semnificativă pentru prima clasă de distanță. Clasa de distanță de 14 km indică media lățimilor și lungimilor poligonului convex care determină teritoriul (home range-ul) femelelor analizate. Aceast rezultat este confirmat și de studiile de telemetrie întreprinse anterior de către Cinegetică INDS Brașov (proiecte cercetare: Nucleu, Carpathian Large Carnivore Project etc.), în urma cărora au rezultat teritorii ale femelelor care au variat de la 10 la 25 km², valori apropiate de cele obținute în studiul prezent. Prin prisma acestui rezultat s-a confirmat comportamentul filopatric al femelelor, aspect reliefat și în alte studii anterioare (Taberlet et al. 1995; Dahle și Swenson 2003). Aceasta se poate explica prin etologia speciei, femele tinere stabilindu-și teritoriile aproape (uneori chiar suprapunându-se) de/peste teritoriile mamelor (Rogers 1987; Blanchard și Knight 1991; Reynolds 1993; Kojola și Laitala 2000). De asemenea, în cadrul unui studiu întreprins de către Kaczensky et al. (2013) mărimea teritoriilor femelelor a variat de la 21 la 53 km², în vreme ce McLellan și Hovey (2001) a înregistrat în medie un home range de 10 km² pentru 12 femele analizate (în acest caz densitățile fiind ridicate).

În ceea ce privește testarea eșantionului de masculi, nu s-a detectat niciun semnal pentru izolarea prin distanță, aceasta situație fiind explicată prin dispersia biologică a indivizilor. Rezultatele anterioare obținute pentru home range-ul indivizilor au indicat o mărime >30 km², în cazul României, acolo unde populația de urs înregistrează densități ridicate (INCDS Brașov, proiect Nucleu 2009-2011), în vreme ce în alte țări valorile sunt mult mai mari: de la 128 km²

(Huber și Roth 1993) la 1055 km² (Dahle și Swenson 2003). Rezultatele obținute pentru masculi trebuie însă interpretate cu grijă, datorită lipsei de informații referitoare la vârsta acestora, urșii în stadiu juvenil deplasându-se pe distanțe foarte mari în vederea stabilirii teritoriilor.

Genetica moleculară se dovedește un instrument util în confirmarea etologiei speciilor. În urma acestui studiu sunt confirmate următoarele aspecte etologie: dispersia masculilor de urs brun, filopatria femelelor, media lățimilor și lungimilor poligonului convex care determină home range-ul femelelor analizate, mărimea redusă a teritoriilor utilizate de către femele comparativ cu cele ale masculilor. Suprapunerea acestor rezultate peste cele obținute din studiile de telemetrie oferă certitudine în determinarea comportamentului speciei și pot fi utilizate pentru formularea unor predicții, respectiv pentru fundamentarea măsurilor de management al populației de urs din România.

Influența factorilor naturali și antropici asupra deplasării indivizilor

Rezultatele prezentului studiu reprezintă o confirmare a celor obținute de către Aryal et al. (2012) referitoare la gradul ridicat de utilizare a habitatelor poziționate pe expoziții nord-estice și sud-estice, concluzionând astfel că fluxul de gene dintre indivizii de urs brun se realizează în funcție de mișcarea acestora pentru căutarea hranei. O altă explicație o reprezintă manifestarea preferințelor speciei pentru expoziție, în funcție de mișcarea sezonieră, mișcare influențată, de asemenea, de disponibilitatea hranei. Astfel, deplasările de primăvară ale urșilor sunt corelate cu disponibilitatea speciilor ierbacee, în vreme ce vara indivizii se deplasează în zone unde sunt disponibile fructe de pădure, urmând ca mai apoi, către toamnă, să utilizeze ca principală sursă de hrană fructificația arborilor sau/și a pomilor fructiferi. Așa cum a fost raportat anterior de către Fernandez et al. (2012) în cadrul modelărilor preferințelor speciei. Habitatele utilizate de către urs în perioada de împerechere, atunci când se concretizează efectele fluxului genic, au înregistrat o caracteristică restrictivă, impunându-se existența pădurilor întinse, în care cantitatea de plante ierbacee proaspăt apărute este foarte ridicată. A rezultat, de asemenea, preferința femelelor pentru expoziția nord-estică în timpul sezonului de împerechere, jumătatea lunii aprilie până în iunie, care este datorată disponibilității hranei, deoarece topirea târzie a zăpezii determină apariția întârziată a plantelor ierbacee. Mișcarea sezonieră de toamnă este corelată atât cu expoziția nordică cât și cu cea sudică, fiind influențată de fructificația speciilor forestiere și de disponibilitatea hranei provenite din livezile de pomi fructiferi. Existența livezilor determină, astfel, aglomerări de toamnă, de ordinul a zeci de urși (ca de exemplu în zonele Dealul Negru -Bistrița și

Domnești–Argeș), determinând în același timp apariția unor pagube însemnate și a conflictelor om-urs.

Simularea privind influența factorilor naturali și antropici în desfășurarea fluxului de gene a indicat un efect semnificativ al expoziției nord-estice, pantei, drumurilor și râurilor în desfășurarea fluxului de gene. Dintre parametrii indicați, expoziția nord-estică, respectiv panta redusă facilitează desfășurarea fluxului de gene, în vreme ce efectul cumulat al drumurilor europene și naționale cu trafic intens și al râurilor restricționează schimbul de informație genetic între habitatele limitrofe situate de-o parte și de alta a acestora.

În prezentul studiu a rezultat existența unei populații de urs continue de-a lungul înregului lanț Carpatic, în contextul în care infrastructura de transport este majoritar alcătuită din drumuri naționale și europene. Chiar și așa, în cadrul analizei genetice desfășurată la scară mică (la nivel de individ) se resimte efectul drumurilor, înregistrat mai ales datorită traficului intens (aproape fără întrerupere) desfășurat pe unele dintre acestea. Bineînțeles, acest efect este în primul rând datorat numărului ridicat de mașini, iar în al doilea rând reprezintă un efect al globalizării, care atrage după sine utilizarea autocamioanelor de mare tonaj care circulă atât în regim diurn, cât și nocturn.

Dezvoltarea economică, respectiv măsurile adoptate pentru evitarea unor dezastruri naturale au determinat intervenția omului mai ales asupra râurilor mari. S-au construit, astfel, lacuri artificiale, terasamente betonate și construcții hidrotehnice, care asociate cu drumurile intens circulate cresc rezistența la mișcarea indivizilor. Efectul cumulativ al râurilor mari și al drumurilor europene (și autostrăzilor) asupra fluxului de gene determină un impact negativ asupra realizării schimbului de informație genetică, crescând costul de traversare dintr-o parte în cealaltă. Costul maxim de traversare se înregistrează atunci când panta până la drum este mare, drumul are un trafic intens, pe râu sunt construcții artificiale, iar panta celuilalt mal este, de asemenea, abruptă și prezintă terasament betonat. Valoarea ridicată a coeficientului de coliniaritate întărește existența impactului negativ exercitat de combinația dintre drumuri și râuri, decurgând și din faptul că, în cele mai multe cazuri, drumurile de pe văi copiază profilul unui râu.

Ursul brun, un animal de dimensiuni mari, pentru a-și conserva energia preferă să utilizeze la deplasare terenurile cu pantă mică, de obicei urmând traseul curbilor de nivel sau al drumurilor forestiere. Într-un studiu de telemetrie întreprins de Gaines et al. (2005), s-a determinat preferința femelelor în a utiliza terenurile cu pantă redusă, excepție făcând cele care intrau în contact cu oamenii, în acest caz neținând cont de pantă pentru a se îndepărta într-un timp cât mai scurt.

Modelul rezultat din simulările influenței factorilor naturali și antropici asupra fluxului de gene a avut ca rezultat o combinație alcătuită din drumuri,

pantă, expoziție nord-estică și distanțele Euclidiene. Acest model reprezintă un predictor al mișcării indivizilor pentru realizarea schimbului de informație genetică. Așa cum s-a explicat anterior, expoziția nord-estică și panta redusă facilitează desfășurarea fluxului de gene, în vreme ce drumurile europene cu trafic intens și autostrăzile contribuie la reducerea acestuia. Efectul cumulativ al acestor parametrii conduce la reducerea schimbului de informație genetică pe distanțe mari. Parametrii acestui model de predicție nu trebuie neglijați atunci când se proiectează măsurile de diminuare a impactului infrastructurii de transport. De asemenea, acest model trebuie să stea la baza deciziilor privind desemnarea culoarelor ecologice și a măsurilor de conservare pe termen lung a populației de urs brun.

Hărțile predictive ale fluxului de gene și ale conectivității

În cadrul acestui studiu s-a identificat reducerea semnificativă a fluxului de gene în două zone importante ale țării: Valea Oltului și Bistrița-Suceava. Influențe de mai mică intensitate au fost detectate, de asemenea, în alte două zone: Valea Prahovei și respectiv Praid-Piatra Neamț. Rezultatele obținute sunt îngrijorătoare dacă se consideră faptul că în ultimele două decenii infrastructura de transport s-a dezvoltat foarte puțin, efectul negativ determinat în prezent fiind înregistrat mai ales datorită intensificării traficului rutier. Drumurile cu trafic intens joacă un rol restrictiv în desfășurarea fluxului de gene (Grilo et al. 2012), având efecte resimțite în diminuarea acestuia. Drumurile europene intens circulate pot acționa ca o barieră de dimensiuni mult mari decât efectul identificat, de aceea rezultatele obținute sunt robuste cu privire la schimbările recente ale peisajului și intensificarea traficului.

Telemetria și determinarea intensității fluxului de gene sunt două analize complementare, combinarea acestora generând rezultate robuste ale rezistenței peisajului la mișcarea indivizilor. În plus, astfel de analize evidențiază factorii implicați în conectivitatea habitatelor, deoarece comportamentul de împerechere și cel al dispersiei biologice sunt mecanismele prin care fluxul de gene operează în populația de urs brun. Aceste aplicații permit identificarea barierelor sau obstacolelor care exercită efecte negative asupra conectivității, evidențiind zonele unde se poate restabili conectivitatea (așa cum este cazul Văii Oltului). În prezent, numai câteva programe de cercetare au estimat rezistența la mișcare a indivizilor utilizând cele două abordări menționate anterior (Coulon et al. 2008; Cushman și Lewis 2010; Shanahan et al. 2011; Cushman et al. 2013). Astfel prezenta cercetare devine foarte utilă în confirmarea acestor aspecte, nu foarte bine documentate până în prezent (Cotovelea et al. 2014 în curs de publicare).

Consemnarea existenței unor astfel de zone de funcționare a fluxului genic, așa cum este în cazul drumurilor: DN1, DN1A, culoarul Rucăr-Bran și drumului european Bistrița-Suceava, accentuează importanța menținerii conectivității habitatelor de-a lungul infrastructurii de transport. Mișcarea naturală a indivizilor nu se poate desfășura decât în condițiile existenței unor zone care îndeplinesc caracteristicile rezultate din modelarea influenței factorilor naturali și antropici. De subliniat este rolul incontestabil al pădurii în realizarea mișcării indivizilor, de aceea se impune evitarea fragmentării subhabitatelor și asigurarea existenței vegetației forestiere în vecinătatea infrastructurii de transport. Conectivitatea, reprezintă gradul în care peisajul facilitează sau împiedică mișcarea indivizilor între locurile cu resurse (Taylor et al. 1993). De aceea pentru asigurarea accesului la sursele naturale de hrană se impune asigurarea continuității habitatelor speciei. Indivizii care trăiesc în zone diferite, neconectate, dezvoltă diferențe genetice, pentru că nu există un flux de gene prin intermediul căruia să se realizeze combinarea informației genetice. De altfel, marile carnivore au nevoie de suprafețe de dimensiuni ridicate pentru satisfacerea cerințelor ecologice/etologice și, de aceea, asupra lor se manifestă cea mai mare presiune (Kubo și Shoji 2014), dacă conectivitatea subhabitatelor este întreruptă.

Distrugerea acestor zone favorabile de trecere peste infrastructură conduce, în timp, la diminuarea schimbului de informație genetică dintre indivizi, fapt ce permite manifestarea unor efecte negative pe termen lung în ceea ce privește viabilitatea populației. Dezvoltarea intravilanului în zonele unde se realizează mișcarea naturală a indivizilor conduce la stoparea utilizării acestor zone sau uneori la generarea unor conflicte om-urs. Pentru a evita acestea este necesar să se evite dezvoltarea zonei intravilane în zonele culoarelor favorabile fluxului genic.

Harta modelului predictiv al fluxului de gene care a prezentat suport statistic a avut la bază combinarea parametrilor: drumuri, pantă, expoziție nord-estică și distanțe Euclidiene, pe baza acesteia realizându-se predicții ale rutelor selectate de urși pentru deplasare, în vederea transmiterii caracterelor genetice.

Din datele procesate au fost identificate culoare de traversare a șoselelor de la favorabilitate medie la mare. Cele 8 exemplare de urs monitorizate prin telemetrie în ultimii anii, au utilizat 5 culoare de trecere dintr-un total de 8 existente în zonele respective. Din cele 7 zone analizate se validează modelul predictiv pentru 5 dintre acestea. Analiza Văii Oltului nu a confirmat traversarea infrastructurii de către exemplarele de urs monitorizate prin telemetrie, validând și în acest caz modelul predictiv pentru acea zonă, care a indicat existența reducerii fluxului de gene. De subliniat este faptul că în cazul a două zone (Praid-Piatra Neamț și Brașov-Sibiu) nu au existat date din telemetrie.

Se validează, astfel, modelul predictiv al fluxului de gene indicând rezistența

ridicată a drumurilor la mișcarea indivizilor, care influențează major intensitatea fluxului genic și conectivitatea în anumite habitate, la care se adaugă influențele râurilor mari, ale pantei terenului, prezenței habitatelor forestiere etc. Consemnarea existenței fluxului de gene peste infrastructura de transport reprezintă un pas important în desemnarea coridoarelor ecologice care să asigure conectivitatea habitatelor, asigurând astfel mișcarea naturală a indivizilor.

Consecințele dezvoltării infrastructurii de transport asupra conservării populației de urs din România

Din perspectiva celor prezentate anterior, având în vedere dezvoltarea mult așteptată a sistemului rutier din România, este previzibil ca restricțiile de deplasare ale exemplarelor să fie din ce în ce mai mari. Infrastructura cu mare capacitate de transport va traversa zone mari, importante, din habitatele ursului brun, putând determina fragmentarea și posibile pierderi ale conectivității habitatelor favorabile existenței speciei, inclusiv cu efecte în plan genetic. De asemenea, trebuie avut în vedere că într-o zonă de aproximativ 10 km de la autostradă se produce și poluare fonică, cu impact negativ asupra existenței indivizilor (Kocijan et al. 2011).

Datorită obiectivelor diferite de management implementate, regiunea centrală a distribuției ursului reprezintă o zonă în care măsurile intensive pentru conservarea ursului brun au fost adoptate și aplicate încă din anii '70. De asemenea, densitățile mari din zona centrală a arealului speciei au determinat aflux de indivizi către partea de nord și vest, zone unde managementul a fost mai puțin intens și densitățile mai reduse.

Fluxul de gene începe să fie redus în partea de nord a zonei centrale de răspândire a speciei (Suceava – Bistrița), dar și în partea de sud-vest a acesteia (tronsonul Râmnicu Vâlcea-Sibiu de pe Valea Oltului). O zonă vulnerabilă există chiar în interiorul Carpaților de Curbură, de-a lungul drumului european de pe Valea Prahovei, acolo unde traficul este intens și aproape neîntrerupt. Așa cum a rezultat din studiile de telemetrie, o femelă de urs brun a așteptat aproximativ 8 ore lângă drumul european ca să traverseze calea rutieră (Jurj Ramon comunicare personală). De asemenea, sunt semnalate accidente cu urși care încearcă să traverseze acest drum și în alte zone.

Partea de nord și de vest a distribuției, ursului brun a beneficiat, așa cum s-a menționat anterior, de un aflux de indivizi din zona centrală a distribuției speciei (Carpații de Curbură), care avea rolul de a acoperi mortalitățile ridicate din aceste zone problematice. De asemenea, este demonstrat că indivizii de urs localizați la limita distribuției înregistrează mortalități mai ridicate decât cei din zona nucleului populației.

Este de necontestat necesitatea dezvoltării infrastructurii de transport, aceasta având un rol vital în dezvoltarea economică a țării și în reducerea timpului de deplasare dintre două puncte. Însă pentru a atenua impactul asupra populațiilor de animale sălbatice, în proiectarea autostrăzilor trebuie să se asigure prevederea și implementarea măsurilor de conectivitate între subhabitatele adiacente prin construcții și amenajări adecvate: construirea în zonele de trecere folosite frecvent de animale a unor viaducte sau tuneluri, a podurilor verzi, respectiv amplasarea în anumite zone a unor panouri antizgomot. Dacă proiectarea acestor măsuri nu se face pe baza unor studii obiective, cea mai mare populație de urs brun din Europa (exceptând Rusia) riscă să fie divizată. În completarea acestor eforturi trebuie să vină și măsurile de management privind asigurarea conectivității habitatelor speciei, prevăzute atât pentru zonele protejate (sit-uri Natura 2000, Parcuri Naționale, Parcuri Naturale, Rezervații etc.), cât și pentru cele situate în afara acestora.

Astfel, pe baza hărților empirice ale rezistenței peisajului realizate la scară mică, așa cum este cazul celor rezultate în prezentul studiu, se pot evalua potențialele efecte negative ale fragmentării habitatelor și, pe baza unor simulări, se pot determina efectele măsurilor defectuoase de management. Modelarea se poate face la nivel de fond cinetic, introducându-se în simulare mult mai mulți parametri care exercită influență asupra speciei.

Zonele identificate ca având cea mai mare densitate a mișcării indivizilor trebuie să devină puncte centrale ale conservării și să se faciliteze aflul de indivizi către punctele vulnerabile, acolo unde intensitatea curentului scade. Astfel, trebuie desemnate coridoare de trecere care să permită schimbul de indivizi dinspre nucleu (Carpații de Curbură) către zonele de nord și vest.

Două dintre autostrăzile care urmează să fie construite vor copia forma naturală a Văii Oltului respectiv a Văii Prahovei, în timp ce a treia, va traversa zona nucleu a populației de urs. Astfel, pentru prima dată vor apărea în zonele respective adevărate bariere pentru fluxul de gene. Efectul cumulativ al râului, al drumului european și al autostrăzii va împiedica mișcarea naturală a urșilor. Soluția viabilă pentru evitarea fragmentării în condițiile țării noastre este dată de prevederea viaductelor, tunelurilor și a podurilor verzi în proiectarea autostrăzilor, respectiv instalarea de panouri antizgomot. Recomandăm adoptarea în proiectarea și construcția autostrăzilor a modalității de lucru din Croația (Kocijan et al. 2011), având la bază modelări genetice și ecologice în urma cărora au rezultat măsurile necesare pentru asigurarea mișcării naturale a indivizilor. Acest program poate să fie implementat și la nivelul țării noastre având la bază modelările de tip landscape genetics, desfășurate pe zonele de interes.

În zonele unde sunt poziționate culoarele favorabile identificate în cadrul

modelării trebuie să se adopte măsuri de atenuare a impactului infrastructurii. Validarea modelelor prin suprapunerea cu datele din telemetrie a oferit o poziționare precisă a locurilor utilizate de către specie pentru traversarea infrastructurii; de aceea, se impune desemnarea și protejarea acestor coridoare.

Desemnarea coridoarelor de conectivitate trebuie să aibă la bază modelarea factorilor naturali și antropici, iar aceste evaluări să fie precedate de date obținute prin intermediul studiilor de telemetrie și a observațiilor directe. Aceste metode îmbinate care vizează ecologia, etologia și caracteristicile genetice ale speciei reprezintă un instrument de analiză complet, menit să asigure conservarea pe termen lung a speciei prin asigurarea schimbului de informație genetică dintre indivizi.

CAPITOLUL 5. CONCLUZII FINALE. CONTRIBUȚII ORIGINALE. RECOMANDĂRI PENTRU PRACTICĂ. DISEMINAREA REZULTATELOR. DIRECȚII VIITOARE DE CERCETARE

5.1. Concluzii finale

Cu privire la testarea privind diversitatea genetică

- Substructurarea în 2 sau 3 grupuri genetice a populației de urs din România a fost influențată de gradul ridicat de înrudire al urșilor habituați și de markerii genetici care prezintă alele nule;

Cu privire la diversitatea genetică a urșilor habituați și a celor nehabituati din zona Valea Prahovei-Brașov

- Diferențele statistice înregistrate la compararea diversității genetice a urșilor habituați și a celor nehabituati sunt nesemnificative;
- Gradul de înrudire a urșilor habituați reprezintă o amenințare asupra echilibrului genetic al speciei, pe termen lung existând pericolul apariției de exemplare degenerate, ca urmare a consangvinizărilor repetate posibile;
- Urșii nehabituati prezintă o diversitate mai ridicată decât cei habituați, valorile medii diferite ale heterozigoției așteptate fiind influențate de prezența structurii familiale a exemplarelor habituate;
- Se observă diminuarea numărului de alelele specifice în grupul urșilor habituați, comparativ cu cei nehabituati, unde numărul ridicat al acestora indică prezența fluxului genic și a structurii panmictice; totodată se resimte influența dispersiei masculilor care asigură schimbul de informație genetică între cele două subpopulații ipotetice;
- Între cele două subpopulații analizate s-a acumulat o diferență genetică de 2%, în vreme ce diferențierea între indivizi în interiorul populațiilor înregistrează cea mai mare valoare (98%).

Cu privire la diversitatea genetică a populației de urs din România

- Populația de urs din România prezintă una dintre cele mai ridicate valori ale diversității genetice din lume;
- Existența unei singure populații și a unui flux de gene permanent la nivel național ($K=1$), întărește ipoteza conform căreia populația de urs

din România a beneficiat de un aflux permanent de indivizi, asigurat prin dispersia biologică a masculilor, dar și prin introducerea de exemplare de urs în diferite zone ale țării;

- Folosirea a minim două metode de determinare a structurii populaționale a oferit certitudinea determinării corecte a numărului de subpopulații;
- Excluderea urșilor habituați a înregistrat efecte asupra mediei heterozigoției observate, rezultând astfel o diversitate genetică mai ridicată cu 5 procente;
- Numărul de alele și numărul efectiv de alele înregistrează valori ridicate explicând, astfel, prezența unei structuri genetice echilibrate;
- Valoarea heterozigoției așteptate este similară cu cea obținută în studiile anterioare, prezentul studiu este realizat pe un eșantion considerabil mai mare de probe și utilizează un număr ridicat de microsateliți, crescând astfel relevanța rezultatelor obținute.

Cu privire la izolarea prin distanță

- Diferențele genetice care apar la nivel de individ nu sunt datorate numai distanțelor geografice dintre aceștia, manifestându-se și influența altor factori naturali și/sau antropici;
- Clasa de distanță de 14 km indică media lățimilor și lungimilor poligonului convex care determină home range-ul femelelor de urs analizate;
- Se confirmă comportamentul filopatric al femelelor de urs brun;
- Se confirmă dispersia biologică a masculilor de urs.

Cu privire la modelarea influenței factorilor naturali și antropici

- Factorii naturali și antropici care oferă predicții asupra fluxului de gene în populația de urs sunt: expoziția nord-estică, expoziția sud-estică, râurile, panta și drumurile;
- Modelul care descrie cel mai bine mișcarea naturală a indivizilor pentru realizarea fluxului genic este alcătuit din: expoziția nord-estică, pantă, drumurile și distanțele Euclidiene;
- Expoziția nord-estică și panta redusă facilitează fluxul genic;
- Efectul cumulat al drumurilor europene și naționale cu trafic intens și al râurilor mari restricționează schimbul de informație genetică și acesta se va resimți la un nivel mult mai intens în timp, dacă nu se adoptă măsuri în prezent.

Cu privire la hărțile predictive ale fluxului de gene și ale conectivității

- S-a identificat reducerea semnificativă a fluxului de gene în două zone importante ale țării: Valea Oltului și Bistrița-Suceava și ușor semnificativă în alte două zone, respectiv Valea Prahovei și Praid-Piatra Neamț;
- S-a identificat existența a două culoare favorabile traversării DN1 de către exemplarele de urs în zonele Brașov-Timișu de Jos, respectiv Timișu de Sus – Predeal – Azuga. Al treilea culoar de intensitate medie este localizat înainte de localitatea Comarnic;
- Pentru Valea Oltului s-a identificat un singur culoar favorabil de trecere, în zona Tâlmaciu;
- S-au identificat două culoare de trecere favorabile pentru zona Praid-Piatra Neamț, în apropiere de localitatea Joseni și respectiv după localitatea Gheorgheni;
- S-a identificat existența unui singur culoar de trecere de o intensitate redusă a fluxului de gene în apropiere de localitatea Tiha Bârgăului, pentru drumul European ce leagă localitățile Bistrița și Suceava;
- Pentru culoarul Rucăr-Bran s-au identificat două culoare de trecere de favorabilitate foarte ridicată (primul înainte de localitatea Râșnov și cel de-al doilea aproape de localitatea Bran) și un culoar de favorabilitate medie (aproape de localitatea Fundata);
- Pentru drumul care leagă localitățile Cheia și Brașov s-au identificat două zone favorabile de trecere; de-a lungul acestui drum național se desfășoară un flux de gene continuu, de intensitate medie.

Cu privire la validarea modelului predictiv al fluxului de gene

- Toți urșii monitorizați prin telemetrie au ales să traverseze DN1/E60 utilizând celulele indicate de modelul predictiv ca având o intensitate de la medie la ridicată a fluxului genic;
- S-au validat culoarele de trecere Brașov-Timișu de Jos, respectiv Timișu de Sus – Predeal – Azuga, acestea fiind utilizate de 5 exemplare de urs;
- S-a validat culoarul de trecere din zona localității Bran, acesta fiind utilizat pentru traversarea drumului European de către un exemplar de urs;
- S-a validat culoarul de trecere de lângă localitatea Tiha Bârgăului utilizat la traversarea drumul European ce leagă localitățile Bistrița și Suceava de către un exemplar de urs;

- Din 3 exemplare de urs monitorizate în Parcul Național Cozia, localizate în zone rezultate din modelare ca având cu flux de gene redus peste infrastructura de transport, nici unul nu a traversat drumul European;
- Cele 8 exemplare de urs monitorizate prin telemetrie au utilizat 5 culoare de trecere dintr-un total de 8 existente în zonele respective;
- Din cele 7 zone analizate se validează modelul predictiv pentru 5 dintre acestea.

Conservarea populației de urs și diminuarea impactului dezvoltării infrastructurii

- În proiectarea autostrăzilor trebuie să se asigure prevederea și implementarea măsurilor de atenuare a impactului: viaducte, tuneluri, poduri verzi și panouri antizgomot în zonele rezultate din modelare ca fiind favorabile traversării (EIM: Studii de evaluare a impactului major asupra mediului);
- Se impune desemnarea coridoarelor de conectivitate care trebuie să aibă la bază modelarea factorilor naturali și antropici, urmând a fi precedate de verificarea prin intermediul studiilor de telemetrie și a observațiilor directe în teren;
- Sunt necesare măsuri specifice managementului cinegetic pentru protejarea zonelor cu cea mai mare densitate a curentului mișcării indivizilor și facilitarea aflului de indivizi către punctele vulnerabile, acolo unde intensitatea curentului scade;
- Adoptarea unor măsuri de management care să asigure menținerea conectivității habitatelor speciei, prevăzute atât pentru zonele protejate, cât și pentru cele situate în afara acestora;
- Adoptarea unui management adecvat al deșeurilor menajere pentru evitarea habituării indivizilor de urs brun, în consecință evitarea formării liniilor înrudite; dacă este necesar se impune asigurarea hranei suplimentare în habitatul natural al speciei pentru a evita apropierea de orașe;
- Evitarea extinderii intravilanului în zona culoarelor favorabile desfășurării mișcării naturale a indivizilor;
- Implementarea unor măsuri pentru restabilirea conectivității acolo unde sunt identificate probleme privind fluxul de gene dintre indivizi (ex. Valea Oltului; Bistrița-Suceava);
- Consemnarea existenței fluxului de gene peste infrastructura de transport reprezintă un pas important în desemnarea coridoarelor

ecologice care să asigure conectivitatea habitatelor, asigurând astfel mișcarea naturală a indivizilor.

5.2. Contribuții originale

- Primul studiu pe o specie de faună săbatică desfășurat exclusiv într-un laborator de genetică din România;
- Prima analiză de tip landscape genetics pe populații de faună sălbatică din România și din sud-estul Europei;
- Primul studiu în care se confirmă prin datele obținute prin telemetrie culoarele rezultate din modelarea de tip landscape genetics;
- Primul studiu în care se testează în modelare influența densității și a expoziției asupra mișcării indivizilor de urs;
- Prima inițiativă de determinare a home range-ului indivizilor utilizând ca predictor testarea semnificației statistice dintre distanțele geografice și genetice;
- Singurul studiu din România care vizează determinarea fluxului genic într-o populație de faună sălbatică înainte de construirea sistemului de autostrăzi;

5.3. Recomandări pentru practică

- Realizarea studiilor de evaluare a impactului asupra mediului utilizând modelarea fluxului genic, observațiile în teren și monitorizarea indivizilor;
- Protejarea culoarelor de trecere identificate și a unei zone tampon egală cu cel puțin jumătatea lățimii culoarului;
- Redarea/menținerea permeabilității culoarelor favorabile de trecere prin menținerea vegetației forestiere până aproape de infrastructura de transport;
- Evitarea extinderii intravilanului în zonele identificate ca fiind favorabile mișcării indivizilor;
- Implementarea măsurilor de atenuare a impactului autostrăzilor în zonele culoarelor de trecere prin crearea de poduri verzi, viaducte, tuneluri, panouri antizgomot;
- Implementarea unor măsuri de management a gunoaielor la nivel național, astfel încât să se evite manifestarea comportamentului oportunist al ursului;

- Extragerea exemplarelor de urși habitați pentru evitarea degenerării structurii genetice prin consagvinizări repetate.

5.4. Direcții viitoare de cercetare

- Identificarea în teren a situației actuale a permeabilității culoarelor favorabile de trecere;
- Determinarea costului mișcării indivizilor prin modelarea rezistenței celulelor și a vitezei de deplasare, utilizând datele obținute din telemetrie și matricile fluxului de gene;
- Se impune abordarea problematicii Văii Oltului și analiza în detaliu utilizând mai multe probe de urs;
- Obținerea datelor preliminare din analize de ADN mitocondrial, pentru cunoașterea cu mai mare precizie a haplotipurilor existente și, în legătură cu acestea, a evoluției postglaciare a speciei în Carpați;
- Analiza secvențelor de ADN mitocondrial și determinarea rutelor de migrație ale speciei, respectiv analiza regiunii de control a ADN-ului mitocondrial;
- În analizele de ADN mitocondrial efectuate pe indivizii de urs din România de către Zachos et al. (2008) și Kohn et al. (1995) au fost identificate două linii mitocondriale (de Est și de Vest), care se întrepătrund în diferite zone ale țării. Rezultatele acestor studii se impun a fi verificate pe un eșantion mărit de probe, deoarece numărul utilizat în cele două studii a fost relativ redus, variind de la 16 la 25 de indivizi;
- Determinarea existenței liniei de separație a liniilor mitocondriale de est și de vest și coroborarea analizelor de ADN nuclear cu cele de ADN mitocondrial;
- Aplicarea analizelor de tip genomic în vederea determinării genelor implicate în adaptarea speciei la condițiile de mediu;
- Determinarea exactă numărului de indivizi la nivel național prin analize de tip non-invaziv.

BIBLIOGRAPFIE

Alexander, S.M., Waters, N.M. & Paquet, P.C. (2005) Traffic volume and highway permeability for a mammalian community in the Canadian Rocky Mountains. *The Canadian Geographer*, 49, 321-331.

Allendorf, F.W. & Luikart, G. (2007) *Conservation and the Genetics of Populations*. Blackwell Publishing.

Aryal, A., Raubenheimer, D., Sathyakumar, S., Poudel, B.S., Ji, W., Kunwar, K.J., Kok, J., Kohshima, S. & Brunton, D. (2012) Conservation Strategy for Brown Bear and Its Habitat in Nepal. *Diversity*, 4, 301-317.

Avise, J.C., Giblin-Davidson, C., Laerm, J., Patton, J.C. & Lansman, R.A. (1979) Mitochondrial DNA clones and matriarchal phylogeny within and among geographic populations of the pocket gopher, *Geomys pinetis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 76, 6694-6698.

Balkenhol, N. (2009) *Evaluating and improving analytical approaches in landscape genetics through simulations and wildlife case studies*. University of Idaho.

Balkenhol, N., Waits, L.P. & Dezzani, R.J. (2009a) Statistical approaches in landscape genetics: an evaluation of methods for linking landscape and genetic data. *Ecography*, 32, 818-830.

Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. & Bonhomme, F. (1996-2004) GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).

Bellemain, E. (2004) *Genetics of the Scandinavian brown bear (Ursus arctos) : implications for biology and conservation*. Agricultural University of Norway. Department of Ecology and Natural Resource Management, PhD thesis.

Bellemain, E., Nawaz, M., Valentini, A., Swenson, J. & Taberlet, P. (2007) Genetic tracking of the brown bear in northern Pakistan and implications for conservation. *Biological Conservation*, 134, 537-547.

Bellemain, E. & Taberlet, P. (2004) Improved noninvasive genotyping method: application to brown bear (*Ursus arctos*) faeces. *Molecular Ecology Notes*, 4, 519-522.

Benn, B. & Herrero, S. (2002) Grizzly bear mortality and human access in Banff and Yoho National Parks, 1971-98. *Ursus*, 13, 213-221.

Bertorelle, G., Bruford, M.W. & Hauffe, H.C. (2009) *Population Genetics for Animal Conservation*. Cambridge University Press. ISBN-10: 0521685370.

p: 410.

Blair, C., Arcos, V.H.J., Cruz, F.R.M.d.I. & Murphy, R.W. (2013) Landscape Genetics of Leaf-Toed Geckos in the Tropical Dry Forest of Northern Mexico. *PLoS One*, 8.

Blair, C., Weigel, D.E., Balazik, M., Keeley, A.T.H., Walker, F.M., Landguth, E., Cushman, S., Melanie Murphy, Waits, L. & Balkenhol, N. (2012) A simulation-based evaluation of methods for inferring linear barriers to gene flow. *Mol Ecol Resour*, 12, 822-833.

Blank, J., Stauss, M.J., Tomiuk, J.r., Fietz, J. & Segelbacher, G. (2007) Habitat type does not affect population genetic structure in sympatric great tits (*Parus major*) and blue tits (*P. caeruleus*). *Ecology & Evolutionary Biology*, 4, 1-14.

Bolliger, J., Lander, T. & Balkenhol, N. (2014) Landscape genetics since 2003: status, challenges and future directions. *Landscape Ecology*.

Bookhout, T.A. (1996) Research and management techniques for wildlife and habitats. The Wildlife Society.

Cazacu, C., Adamescu, M.C., Ionescu, O., Ionescu, G., Jurj, R., Popa, M., Cazacu, R. & Cotovelea, A. (2014) Mapping trends of large and medium size carnivores of conservation interest in Romania. *Annals of Forest Research*, 57, 97-107.

Cerdeira, J.O., Pinto, L.S., Cabeza, M. & Gaston, K.J. (2010) Species specific connectivity in reserve-network design using graphs. *Biological Conservation*, 143, 408-415.

Chester, C.C. (2006) Conservation across Borders: Biodiversity in an Interdependent World. Island Press, Washington, DC.

Clark, J.D., Huber, D. & Servheen, C. (2002) Bear reintroductions: lessons and challenges. *Ursus*, 13, 335-345.

Cotovelea, A., Russo, I.R.M., Ionescu, O., Sofletea, N., Curtu, A.L., Ionescu, G., Bruford, M.W. (2014). Landscape genetics suggests connectivity models for mitigating infrastructure development impact on the brown bear (*Ursus arctos*) population in the Carpathians. *Journal of Applied Ecology*. *Lucrare trimisă spre publicare*.

Cotovelea, A., Ionescu, O., Sofletea, N., Ionescu, G., Jurj, R., Sirbu, G., Fedorca, M., Curtu, A.L. (2014). Genetic diversity in habituated and wild individuals of brown bear (*Ursus arctos*). *Annals of Forest Research*. *Lucrare acceptată spre publicare*.

Cotovelea, A. (2014) Predictive models for gene flow (“landscape genetics”) in Romanian large carnivores populations. *Revista de Silvicultura si Cinegetica*, 34.

Cotovelea, A. & Ciocîrlan, E. (2014) Molecular genetics, a useful tool for trees and wildlife species conservation. *Revista de Silvicultura si Cinegetica*, 34.

Cotovelea, A., Șofletea, N., Ionescu, G. & Ionescu, O. (2013a) Genetic approaches for Romanian brown bear (*Ursus arctos*) conservation. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov*, 6.

Cotovelea, A., Șofletea, N., Ionescu, G., Jurj, R. & Ionescu, O. (2013b) DNA isolation and amplification in Romanian species of wild animals. *Proceeding of the Forest and Sustainable Development. Brașov, Romania, 19-20 October 2012.*

Coulon, A., Cosson, J.F., Angibault, J.M., Cargnelutti, B., Galan, M., Morellet, N., Petit, E., Aulagnier, S. & Hewison, A.J.M. (2004) Landscape connectivity influences gene flow in a roe deer population inhabiting a fragmented landscape: an individual-based approach. *Mol Ecol*, 13, 2841-2850.

Crispo, E., Bentzen, P., Reznick, D.N., Kinnison, M.T. & Hendry, A.P. (2006) The relative influence of natural selection and geography on gene flow in guppies. *Mol Ecol*, 15, 49-62.

Curtu, A.L. & Șofletea, N. (2008) Genetică forestieră. *Notițe de curs.*

Cushman, S.A. (2006) Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation*, 128, 231-240.

Cushman, S.A. & Landguth, E.L. (2010) Spurious correlations and inference in landscape genetics. *Mol Ecol*, 19, 3592-3602.

Cushman, S.A. & Lewis, J.S. (2010) Movement behavior explains genetic differentiation in American black bears. *Landscape Ecology*, 25, 1613-1625.

Cushman, S.A., McKelvey, K.S., Hayden, J. & Schwartz, M.K. (2006) Gene Flow in Complex Landscapes: Testing Multiple Hypotheses with Causal Modeling. *Am Nat*, 168, 486-499.

Cushman, S.A., McRae, B., Adriaensen, F., Beier, P., Shirley, M. & Zeller, K. (2013) *Biological corridors and connectivity*. Published 2013 by John Wiley & Sons, Ltd. *Key Topics in Conservation Biology 2*, First Edition. Edited by David W. Macdonald and Katherine J. Willis.

Dahle, B. & Swenson, J.E. (2003) Seasonal range size in relation to reproductive strategies in brown bears *Ursus arctos*. *Journal of Animal Ecology*, 76, 660-667.

De Barba, M., Waits, L.P., Garton, E.O., Genovesi, P., Randi, E., Mustoni, A. & Groff, C. (2010) The power of genetic monitoring for studying demography, ecology and genetics of a reintroduced brown bear population. *Mol Ecol*, 19, 3938-3951.

Deyoung, R.W., Honeycutt, R.L. & Brennan (2005) The molecular toolbox: genetic techniques in wildlife ecology and management. *Journal of Wildlife Management*, 69, 1362-1384.

Doyle, J.J. & Doyle, J.L. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.

Drewry, J.M., Van Manen, F.T. & Ruth, D.M. (2013) Density and genetic structure of black bears in coastal South Carolina. *Journal of Wildlife Management*, 77, 153-164.

Dyer, R.J., Nason, J.D. & Garrick, R.C. (2010) Landscape modelling of gene flow: improved power using conditional genetic distance derived from the topology of population networks. *Mol Ecol*, 19, 3746-3759.

Elfström, M., Zedrosser, A., Jerina, K., Støen, O.-G., Kindberg, J., Budic, L., Jonozovič, M. & Swenson, J.E. (2014) Does despotic behavior or food search explain the occurrence of problem brown bears in Europe? *The Journal of Wildlife Management*, n/a-n/a.

Elfström, M., Zedrosser, A., Støen, O.-G. & Swenson, J.E. (2014) Ultimate and proximate mechanisms underlying the occurrence of bears close to human settlements: review and management implications. *Mammal Review*, 44, 5-18.

Elliot, N.B., Cushman, S.A., Macdonald, D.W. & Loveridge, A.J. (2014) The devil is in the dispersers: predictions of landscape connectivity change with demography. *Journal of Applied Ecology*, n/a-n/a.

Elliott, C.P., Enright, N.J., Allcock, R.J., Gardner, M.G., Meglecz, E., Anthony, J. & Krauss, S.L. (2014) Microsatellite markers from the Ion Torrent: a multi-species contrast to 454 shotgun sequencing. *Mol Ecol Resour*, 14, 554-568.

Fahrig, L. & Rytwinski, T. (2009) Effects of Roads on Animal Abundance: an Empirical Review and Synthesis. *Ecology and Society*, 14.

Falush, D., Stephens, M. & Pritchard, J.K. (2003) Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data: Linked Loci and Correlated Allele Frequencies. *Genetics*, 164, 1567-1587.

Falush, D., Stephens, M. & Pritchard, J.K. (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes*, 7, 574-578.

Ferris, S.D., Sage, R.D., Huang, C.-M., Nielsen, J.R.T.N., Ritte, U. & Wilson, A.C. (1983) Flow of mitochondrial DNA across a species boundary. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 80, 2290-2294.

Fisher, J.T., Wheatley, M. & Mackenzie, D. (2014) Spatial Patterns of Breeding Success of Grizzly Bears Derived from Hierarchical Multistate Models. *Conserv Biol*.

Francois, O., Ancelet, S. & Guillot, G. (2006) Bayesian Clustering Using Hidden Markov Random Fields in Spatial Population Genetics. *Genetics*, 174, 805-816.

Francois, O. & Durand, E. (2010) Spatially explicit Bayesian clustering models in population genetics. *Mol Ecol Resour*, 10, 773-784.

Friebe, A., Swenson, J.E. & Sandegren, F. (2001) Denning chronology of female brown bears in central Sweden. *Ursus*, 12, 37-46.

Geffen, E.L.I., Waidyaratne, S., Dalen, L., Angerbjorn, A., Vila, C., Hersteinsson, P., Fuglei, E.V.A., White, P.A., Goltsman, M., Kapel, C.M.O. & Wayne, R.K. (2007) Sea ice occurrence predicts genetic isolation in the Arctic fox. *Mol Ecol*, 16, 4241-4255.

Gilbert, R.O. (1987) *Statistical Methods for Environmental Pollution Monitoring*. van Nostrand Rienhold Company, Inc., New York.

Gittleman, J.L. & Gompper, M.E. (2001) The Risk of Extinction--What You Don't Know Will Hurt You. *Science*, 291, 997-999.

Guillot, G. & Rousset, F.o. (2012) Dismantling the Mantel tests.

Gunther, K.A. (2004) Management of habituated grizzly bears in North America J. Rahm ed., *Trans. of the 69th North American Wildlife and Natural Resources Conference*. Washington: Wildlife Management Institute.

Hartl, G.B. & Hartl, P. (1994) Maintenance of high levels of allelic variation in spite of a severe bottleneck in population size: the brown bear (*Ursus arctos*) in the Western Carpathians. *Biodiversity and Conservation*, 3, 546-554.

Holzhauser, S.I.J., Ekschmitt, K., Sander, A.-C., Dauber, J. & Wolters, V. (2006) Effect of historic landscape change on the genetic structure of the bush-cricket *Metrioptera roeseli*. *Landscape Ecology*, 21, 891-899.

Huber, D. & Roth, H.U. (1993) Movements of European brown bears in Croatia. *Acta Theriologica*, 38, 151-159.

Hubisz, M.J., Falush, D., Stephens, M. & Pritchard, J.K. (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour*, 9, 1322-1332.

Ionescu, O. (1999) The management of the brown bear in Romania. *Bear Conservation Action Plan*, IUCN.

Ionescu, O. & Isuf, C. (1999) Bear-human conflicts in Romania. *International Bear Association Conference on bear research and management*.

Itoh, T., Sato, Y., Mano, T. & Iwata, R. (2009) Estimating a suitable microsatellite marker set for individual identification and parentage tests of brown bear (*Ursus arctos*) in the Akan-Shiranuka Region, eastern Hokkaido, Japan. *Journal of Forest Research*, 14, 117-122.

Jerina, K., Debeljak, M., Džeroski, S., Kobler, A. & Adamič, M. (2003) Modeling the brown bear population in Slovenia. *Ecological Modelling*, 170, 453-469.

Jerina, K., Jonozovič, M., Krofel, M. & Skrbinšek, T. (2013) Range and

local population densities of brown bear *Ursus arctos* in Slovenia. *European Journal of Wildlife Research*, 59, 459-467.

Karamanlidis, A.A., De Barba, M., Georgiadis, L., Groff, C., Jelenčič, M., Kocijan, I., Kruckenhauser, L., Rauer, G., Sindičić, M., Skrbinšek, T. & Huber, D. (2009) Common guidelines for the genetic study of brown bears (*Ursus arctos*) in Southeastern Europe.

Karamanlidis, A.A., Straka, M., Drosopoulou, E., Gabriel Hernando, M., Kocijan, I., Paule, L. & Scouras, Z. (2011) Genetic diversity, structure, and size of an endangered brown bear population threatened by highway construction in the Pindos Mountains, Greece. *European Journal of Wildlife Research*, 58, 511-522.

Karamanlidis, A.A., Youlatos, D., Sgardelis, S. & Scouras, Z. (2007) Using sign at power poles to document presence of bears in Greece. *Ursus*, 18, 54-61.

Kark, S., Levin, N., Grantham, H.S. & Possingham, H.P. (2009) Between-country collaboration and consideration of costs increase conservation planning efficiency in the Mediterranean Basin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, 15368-15373.

Kellert, S. (1994) Public attitudes toward bears and their conservation. *International Bear Association Conference on bear research and management*, 9, 43-50.

Kendall, K.C., Stetz, J.B., Boulanger, J., Macleod, A.C., Paetkau, D. & White, G.C. (2009) Demography and Genetic Structure of a Recovering Grizzly Bear Population. *Journal of Wildlife Management*, 73, 3-17.

Kendall, M.G. (1970) *Rank Correlation Methods*. 4th edition. London: Griffin.

Kindberg, J. (2010) *Monitoring and Management of the Swedish Brown Bear (*Ursus arctos*) Population*. Faculty of Forest Sciences. Department of Wildlife, Fish and Environmental Studies Umeå.

Kindlmann, P. & Burel, F. (2008) Connectivity measures: a review. *Landscape Ecology*.

Kleven, O., Hallström, B.M., Hailer, F., Janke, A., Hagen, S.B., Kopatz, A. & Eiken, H.G. (2012) Identification and evaluation of novel di- and tetranucleotide microsatellite markers from the brown bear (*Ursus arctos*). *Conservation Genetics Resources*, 4, 737-741.

Kocijan, I., Galov, A., Četković, H., Kusak, J., Gomerčić, T. & Huber, Đ. (2011) Genetic diversity of Dinaric brown bears (*Ursus arctos*) in Croatia with implications for bear conservation in Europe. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, 76, 615-621.

Kohn, M., Knauer, F., Stoffella, A., Schroder, W. & Paabo, S. (1995)

Conservation genetics of the European brown bear - a study using excremental PCR of nuclear and mitochondrial sequences. *Mol Ecol*, 4, 95-103.

Kohn, M.H., York, E.C., Kamradt, D.A., Haught, G., Sauvajot, R.M. & Wayne, R.K. (1999) Estimating population size by genotyping faeces. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 266, 657-663.

Kojola, I. & Laitala, H.-M. (2000) Changes in the structure of an increasing brown bear population with distance from core areas: another example of presaturation female dispersal? *Ann. Zool. Fennici*, 37.

Kool, J.T., Moilanen, A. & Treml, E.A. (2013) Population connectivity: recent advances and new perspectives. *Landscape Ecology*, 28, 165-185.

Kopatz, A., Eiken, H.G., Hagen, S.B., Ruokonen, M., Esparza-Salas, R., Schregel, J., Kojola, I., Smith, M.E., Wartiainen, I., Aspholm, P.E., Wikan, S., Rykov, A.M., Makarova, O., Polikarpova, N., Tirronen, K.F., Danilov, P.I. & Aspi, J. (2012) Connectivity and population subdivision at the fringe of a large brown bear (*Ursus arctos*) population in North Western Europe. *Conservation Genetics*, 13, 681-692.

Kruckenhauser, L., Rauer, G., Däubel, B. & Haring, E. (2008) Genetic monitoring of a founder population of brown bears (*Ursus arctos*) in central Austria. *Conservation Genetics*, 10, 1223-1233.

Kubo, T. & Shoji, Y. (2014) Spatial tradeoffs between residents' preferences for brown bear conservation and the mitigation of human-bear conflicts. *Biological Conservation*, 176, 126-132.

Landguth, E.L., Cushman, S.A., Murphy, M.A. & Luikart, G. (2010a) Relationships between migration rates and landscape resistance assessed using individual-based simulations. *Mol Ecol Resour*, 10, 854-862.

Landguth, E.L., Cushman, S.A., Schwartz, M.K., Mckelvey, K.S., Murphy, M. & Luikart, G. (2010b) Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Mol Ecol*, 19, 4179-4191.

Lansman, R.A., Avise, J.C. & Huettel, M.D. (1983) Critical experimental test of the possibility of "paternal leakage" of mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 80, 1969-1971.

Lawrence, E. & Henderson, I.F. (1989) *Henderson's Dictionary of Biological Terms* (10 ed.). Harlow (UK): Longman Scientific and Technical.

Legendre, P. & Fortin, M.-J. (1989) Spatial pattern and ecological analysis. *Vegetatio*, 80, 107-138.

Legendre, P., Lapointe, F.-J. & Casgrain, P. (1994) Modelling brain evolution behavior: a permutational regression approach. *Evolution*, 48, 1487-1499.

Leonard, J.A., Wayne, R.K. & Cooper, A. (2000) Population genetics of ice age brown bears. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, 1651-1654.

Lichstein, J.W. (2006) Multiple regression on distance matrices: a multivariate spatial analysis tool. *Plant Ecology*, 188, 117-131.

Linnell, J.C.D., Odden, J., Smith, M.E., Aanes, R. & Swenson, J.E. (1999) Large carnivores that kill livestock: do "problem individuals" really exist? *Wildlife Society Bulletin*, 27, 698-705.

Linnell, J.D.C., Swenson, J.E. & Andersen, R. (2001) Predators and people: conservation of large carnivores is possible at high human densities if management policy is favourable. *Animal Conservation*, 4, 345-349.

López-Hoffman, L., Varady, R.G., Flessa, K.W. & Balvanera, P. (2009) Ecosystem services across borders: a framework for transboundary conservation policy. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 8, 84-91.

Lorenzini, R., Posillico, M., Lovari, S. & Petrella, A. (2004) Non-invasive genotyping of the endangered Apennine brown bear: a case study not to let one's hair down. *Animal Conservation*, 7, 199-209.

Luikart, G., Ryman, N., Tallmon, D.A., Schwartz, M.K. & Allendorf, F.W. (2010) Estimation of census and effective population sizes: the increasing usefulness of DNA-based approaches. *Conservation Genetics*, 11, 355-373.

Mace, R.D. & Waller, J.S. (1996) Final report: grizzly bear ecology in the Swan Mountains, Montana.

Manchi, S. & Swenson, J.E. (2005) Denning behaviour of Scandinavian brown bears *Ursus arctos*. *Wildlife Biology*, 11, 123-132.

Manel, S., Berthoud, F., Bellemain, E., Gaudeul, M., Luikart, G., Swenson, J.E., Waits, L.P., Taberlet, P. & Consortium, I. (2007) A new individual-based spatial approach for identifying genetic discontinuities in natural populations. *Mol Ecol*, 16, 2031-2043.

Manel, S.P. & Holderegger, R. (2013) Ten years of landscape genetics. *Trends Ecol Evol*, 28.

Manel, S.P., Schwartz, M.K., Luikart, G. & Taberlet, P. (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends Ecol Evol*, 18.

Maanen, E. Van, Predoiu, G., Klaver, R., Soule, M., Popa, M., Ionescu, O., Jurj, R., Negus, S., Ionescu, G., Altenburg, W. (2006). Safeguarding the Romanian Carpathian Ecological Network. A vision for large carnivores and biodiversity in East Europe – 158 pg. Ed. - Brandsma Offset Ferwerd – Holand. ISBN – 10: 90-807150-8-5, ISBN -13: 978-90-807150-8-0.

Manly, B.F.J. (1986) Randomization and regression methods for testing for associations with geographical, environmental and biological distances between populations. *Res. Pop. Ecol.*, 28, 201–218.

Mantel, N. (1967) The Detection of Disease Clustering and a Generalized

Regression Approach. *Cancer Research*, 27, 209-220.

Mateo-Sánchez, M.C., Cushman, S.A. & Saura, S. (2014) Connecting endangered brown bear subpopulations in the Cantabrian Range (north-western Spain). *Animal Conservation*.

Matsushashi, T., Masuda, R., Mano, T. & Yoshida, M.C. (1999) Microevolution of the Mitochondrial DNA Control Region in the Japanese Brown Bear (*Ursus arctos*) Population. *Mol Biol Evol*, 16, 676-684.

McAlpine, C.A., Rhodes, J.R., Bowen, M.E., Lunney, D., Callaghan, J.G., Mitchell, D.L. & Possingham, H.P. (2008) Can multiscale models of species' distribution be generalized from region to region? A case study of the koala. *Journal of Applied Ecology*, 45, 558-567.

McLellan, B.N. & Shackleton, D. (1988) Grizzly bears and resource extraction industries: effects of roads on behaviour habitat use and demography. *Journal of Applied Ecology*, 25, 451-460.

McLellan, B.N. (2008) Maintaining viability of brown bears along the Southern fringe of their distribution. *Ursus*, 10, 607-611.

McLellan, B.N. & Hovey, F.W. (2001) Habitats selected by grizzly bears in a multiple use landscape. *Journal of Wildlife Management*, 65, 92-99.

McLoughlin, P.D., Ferguson, S.H. & Messier, F.O. (2000) Intraspecific variation in home range overlap with habitat quality: a comparison among brown bear populations. *Evolutionary Ecology*, 14, 39-60.

Mcrae, B.H. (2006) Isolation by resistance. *Evolution*, 60, 1551-1561.

Mcrae, B.H., Dickson, B.G., Keitt, T.H. & Shah, V.B. (2008) Using circuit theory to model connectivity in ecology, evolution, and conservation. *Ecology*, 89, 2712-2724.

Mech, L.D. (1995) The challenge and opportunity of recovering wolf populations. 9(2):270-278. Jamestown, ND: Northern Prairie Wildlife Research Center Online. Version 16JUN2000. *Conservation Biology*, 9, 270-278.

Moore, J.A., Draheim, H.M., Etter, D., Winterstein, S. & Scribner, K.T. (2014) Application of large-scale parentage analysis for investigating natal dispersal in highly vagile vertebrates: a case study of American black bears (*Ursus americanus*). *PLoS One*, 9, e91168.

Mortelliti, A., Amori, G., Capizzi, D., Cervone, C., Fagiani, S.,

Pollini, B. & Boitani, L. (2011) Independent effects of habitat loss, habitat fragmentation and structural connectivity on the distribution of two arboreal rodents. *Journal of Applied Ecology*, 48, 153-162.

Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., G.Horn & Erlich, H. (1986) Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 263-273.

Munro, R.H.M., Nielsen, S.E., Price, M.H., Stenhouse, G.B. & Boyce, M.S. (2006) Seasonal and diel patterns of grizzly bear diet and activity in West-Central Alberta. *Journal of Mammalogy*, 87, 1112-1121.

Murphy, M.A., Evans, J.S., Cushman, S.A. & Storfer, A. (2008a) Representing genetic variation as continuous surfaces: an approach for identifying spatial dependency in landscape genetic studies. *Ecography*, 31, 685-697.

Murphy, M.A., Evans, J.S., Cushman, S.A. & Storfer, A. (2008b) Representing genetic variation as continuous surfaces: an approach for identifying spatial dependency in landscape genetic studies. *Ecography*, 31, 685-697.

Nawaz, M.A., Martin, J. & Swenson, J.E. (2014) Identifying key habitats to conserve the threatened brown bear in the Himalaya. *Biological Conservation*, 170, 198-206.

Nellemann, C., Støen, O.-G., Kindberg, J., Swenson, J.E., Vistnes, I., Ericsson, G., Katajisto, J., Kaltenborn, B.P., Martin, J. & Ordiz, A. (2007) Terrain use by an expanding brown bear population in relation to age, recreational resorts and human settlements. *Biological Conservation*, 138, 157-165.

Neville, H.M., Dunham, J.B. & Peacock, M.M. (2006) Landscape attributes and life history variability shape genetic structure of trout populations in a stream network. *Landscape Ecology*, 21, 901-916.

Nielsen, S.E., Munro, R.H.M., Bainbridge, E.L., Stenhouse, G.B. & Boyce, M.S. (2004) Grizzly bears and forestry. *Forest Ecology and Management*, 199, 67-82.

Nowell, K. & Jackson, P. (1996) *Wild cats: status survey and conservation action plan*. IUCN Publications, Cambridge, UK, 382 pp.

Okarma, H., Dohvanych, Y., Findo, S., Ionescu, O., Koubek, P. & Szemethy, L. (2000) *Status of Carnivores in Carpathians*.

Olea, P.P. & Mateo-Tomas, P. (2014) Living in risky landscapes: delineating management units in multithreat environments for effective species conservation. *Journal of Applied Ecology*, 51, 42-52.

Oliveira, C.G., Martinez, R.A. & Gaiotto, F.A. (2007) DNA extraction from bristles and quills of *Chaetomys subspinosus* (Rodentia: Erethizontidae) using a novel protocol. *Genet. Mol. Res.*, 6, 657-666.

Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. & Strobeck, C. (1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol Ecol*, 4, 347-354.

Paetkau, D., Shields, G.F. & Strobeck, C. (1998) Gene flow between insular, coastal and interior populations of brown bears in Alaska. *Mol Ecol*, 7, 1283-1292.

Paetkau, D. & Strobeck, C. (1994) Microsatellite analysis of genetic variation in black bear populations. *Mol Ecol*, 3, 489-495.

Paetkau, D., Waits, L.P., Clarkson, P.L., Craighead, L. & Strobeck, C. (1997) An empirical evaluation of genetic distance statistics using microsatellite data from bear (Ursidae) populations. *Genetics*, 147, 1943-1957.

Paule, L., Ionescu, O. & Kropil, R. (2007) Conservation genetics: new tool for wildlife management and nature conservation. Works of Biennial Scientific Conference with international participation Forests and Sustainable Development of Brasov, Romania, pp. 307-312.

Peakall, R.O.D. & Smouse, P.E. (2006) genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.

Pelletier, D., Clark, M., Anderson, M.G., Rayfield, B., Wulder, M.A. & Cardille, J.A. (2014) Applying circuit theory for corridor expansion and management at regional scales: tiling, pinch points, and omnidirectional connectivity. *PLoS One*, 9, e84135.

Pérez, T., Naves, J., Vázquez, J.F., Seijas, J., Corao, A., Albornoz, J. & Domínguez, A. (2010) Evidence for improved connectivity between Cantabrian brown bear subpopulations. *Ursus*, 21, 104-108.

Pérez, T., Vázquez, F., Naves, J., Fernández, A., Corao, A., Albornoz, J. & Domínguez, A. (2009) Non-invasive genetic study of the endangered Cantabrian brown bear (*Ursus arctos*). *Conservation Genetics*, 10, 291-301.

Polak, T., Rhodes, J.R., Jones, D., Possingham, H.P. & Frair, J. (2014) Optimal planning for mitigating the impacts of roads on wildlife. *Journal of Applied Ecology*, 51, 726-734.

Pritchard, J.K., Stephens, M. & Donnelly, P. (2000) Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155, 945-959.

Pritchard, J.K., Stephens, M., Rosenberg, N.A. & Donnelly, P. (2000) Association Mapping in Structured Populations. *Am J Hum. Genet*, 67, 170-181.

Queiros, J.O., Vicente, J.N., Boadella, M., Gortázar, C. & Alves, P.C.L. (2014) The impact of management practices and past demographic history on the genetic diversity of red deer (*Cervus elaphus*): an assessment of population and individual fitness. *Biological Journal of the Linnean Society*, 111, 209-223.

Randi, E., Gentile, L., Boscagli, G., Huber, D. & Roth, H.U. (1994) Mitochondrial DNA sequence divergence among some west European brown bear (*Ursus arctos* L.) populations. *Heredity (Edinb)*, 73, 480-489.

Raufaste, N. & Rousset, F.O. (2001) Are partial mantel tests adequate? *Evolution*, 55, 1703-1705.

Riley, S.P., Pollinger, J.P., Sauvajot, R.M., York, E.C., Bromley, C., Fuller, T.K. & Wayne, R.K. (2006) A southern California freeway is a physical and social barrier to gene flow in carnivores. *Mol Ecol*, 15, 1733-1741.

Rogers, I.I. (1987) Effects of food supply and kinship on social behavior, movements, and population growth of black bears in Northeastern Minnesota. *Wildlife Monographs*, 1-72.

Rogers, L.L. (2011) Does diversionary feeding create nuisance bears and jeopardize public safety? *Human Wildlife Interactions*, 5, 287-295.

Ronce, O. (2007) How Does It Feel to Be Like a Rolling Stone? Ten Questions About Dispersal Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38, 231-253.

Rose, C.G., Paynter, K.T. & Hare, M.P. (2006) Isolation by distance in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, in Chesapeake Bay. *J Hered*, 97, 158-170.

Røskaft, E., Bjerke, T., Kaltenborn, B., Linnell, J.D.C. & Andersen, R. (2003) Patterns of self-reported fear towards large carnivores among the Norwegian public. *Evolution and Human Behavior*, 24, 184-198.

Rousset, F. (2008) genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour*, 8, 103-106.

Saarma, U. & Kojola, I. (2007) Matrilinial genetic structure of the brown bear population in Finland. *Ursus*, 18, 30-37.

Saccone, C., Pesole, G. & Sbisa, E. (1991) The main regulatory region of mammalian mitochondrial DNA: Structure-function model and evolutionary pattern. *Journal of Molecular Evolution*, 33, 83-91.

Schwartz, C.C., Haroldson, M.A., Gunther, K.A. & Moody, D. (2006) Distribution of grizzly bears in the Greater Yellowstone Ecosystem in 2004. *Ursus*, 17, 63-66.

Schwartz, C.C., Keating, K.A., Reynolds, H.V., Victor G. Barnes, J., Sellers, R.A., Swenson, J.E., Miller, S.D., McLellan, B.N., Keay, J., McCann, R., Gibeau, M., Wakkinen, W.F., Mace, R.D., Kasworm, W., Smith, R. & Herrero, S. (2003) Reproductive maturation and senescence in the female brown bear. *Ursus*, 14, 109-119.

Schwartz, M.K., Luikart, G. & Waples, R.S. (2007) Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *Trends Ecol Evol*, 22, 25-33.

Segelbacher, G. (2002) Genetic structure of capercaillie populations: a non-invasive approach at multiple spatial scales.

Servheen, C. (1990) The Status and Conservation of the bears of the world. *Proceeding of the International Association for bear research and management*.

Servheen, C., Herrero, S. & Peyton, B. (1999) Status Survey and Conservation Action Plan. *IUCN/SSC Bear and Polar Bear Specialist*.

Spellerberg, I.F. (1998) Ecological effects of roads and traffic: a literature review. *Global Ecology and Biogeography Letters*, 7, 317-333.

Støen, O.G., Bellemain, E., Sæbø, S. & Swenson, J.E. (2005) Kin-related

spatial structure in brown bears *Ursus arctos*. Behav Ecol Sociobiol, 59, 191-197.

Støen, O.G. (2006) Natal dispersal and social organization in brown bears. Department of Ecology and Natural Resource Management Norwegian University of Life Sciences.

Straka, M., Paule, L. & Ionescu, O. (2008) Genetic structure of brown bear (*Ursus arctos* L.) populations from Slovak and Romanian Carpathians. Proceeding of the International Symposium Forest and Sustainable Development, Brasov.

Straka, M., Paule, L., Ionescu, O., Stofik, J. & Adamec, M. (2012) Microsatellite diversity and structure of Carpathian brown bears (*Ursus arctos*): consequences of human caused fragmentation. Conservation Genetics, 13, 153-164.

Swenson, J.E., Dahle, B. & Sandegren, F. (2001) Intraspecific predation in Scandinavian brown bears older than cubs-of-the-year. *Ursus*, 12, 81-92.

Swenson, J.E., Gerstl, N., Dahle, B. & Zedrosser, A. (2000) Action Plan for the conservation of the Brown Bear (*Ursus arctos*) in Europe.

Swenson, J.E., Sandegren, F., Bjarvall, A. & Wabakken, P. (1998) Living with success: research needs for an expanding brown bear population. *Ursus*, 10, 17-23.

Swenson, J.E., Taberlet, P. & Bellemain, E. (2011) Genetics and conservation of European brown bears *Ursus arctos*. *Mammal Review*, 41, 87-98.

Swenson, J.E., Wabakken, P., Sandegren, F., Bjarvall, A., Franzen, R. & Soderberg, A. (1995) The near extinction and recovery of brown bears in Scandinavia in relation to the bear management policies of Norway and Sweden. *Wildlife Biology*, 1.

Taberlet, P. & Bouvet, J. (1994) Mitochondrial DNA polymorphism, phylogeography, and conservation genetics of the brown bear *Ursus arctos* in Europe. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 225, 195-200.

Taberlet, P., Camarra, J.J., Griffin, S., Uhrès, E., Hanotte, O., Waits, L.P., Dubois-Paganon, C., Burke, T. & Bouvet, J. (1997) Noninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. *Mol Ecol*, 6, 869-876.

Taberlet, P. & Luikart, G. (1999) Non-invasive genetic sampling and individual identification. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68, 41-55.

Taberlet, P., Swenson, J.E., Sandegren, F. & Bjarvall, A. (1995) Localization of a contact zone between two highly divergent mitochondrial DNA lineages of the brown bear *Ursus arctos* in Scandinavia. *Conservation Biology*, 9, 1255-1261.

Tammeleht, E., J. Remm, M.K., Davison, J., Tumanov, I., Saveljev, A., Nnil, P.M., Kojola, I. & Saarma, U. (2010) Genetic structure in large, continuous

mammal populations: the example of brown bears in northwestern Eurasia. *Mol Ecol*, 10, 5359-5370.

Taylor, P., Fahrig, L., Henein, K. & Merriam, G. (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. *OIKOS*, 68, 571-573.

Taylor, Z. & Hoffman, S. (2013) Landscape models for nuclear genetic diversity and genetic structure in white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Heredity* (Edinb), 1-8.

Valdiosera, C.E., Garcia, N., Anderung, C., Dalen, L., Cregut-Bonnouere, E., Kahlke, R.D., Stiller, M., Brandstrom, M., Thomas, M.G., Arsuaga, J.L., Gotherstrom, A. & Barnes, I. (2007) Staying out in the cold: glacial refugia and mitochondrial DNA phylogeography in ancient European brown bears. *Mol Ecol*, 16, 5140-5148.

Van Oosterhout, C., Hutchinson, W.F., Wills, D.P.M. & Shipley, P. (2004) micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4, 535-538.

Waits, L., Paetkau, D., Strobeck, C. & Ward, R.H. (1998a) A comparison of genetic diversity in North American brown bears. *Ursus*, 10, 307-314.

Waits, L.P., Taberlet, P., Swenson, J.E., Sandegren, F. & Franzen, R. (2000) Nuclear DNA microsatellite analysis of genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctos*). *Mol Ecol*, 9, 421-431.

Waits, L.P., Talbot, S.L., Ward, R.H. & Shields, G.F. (1998b) Mitochondrial DNA Phylogeography of the North American Brown Bear and Implications for Conservation. *Conservation Biology*, 12, 408-417.

Waller, J.S. & Servheen, C. (2005) Effects of transportation infrastructure on grizzly bears in Northwestern Montana. *The Wildlife Society*, 69, 985-1000.

Walsh, P., Metzger, D. & Higuchi, R. (1991) Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10, 506-513.

Wang, I.J. (2013) Examining the full effects of landscape heterogeneity on spatial genetic variation: a multiple matrix regression approach for quantifying geographic and ecological isolation. *Evolution*, 67, 3403-3411.

Wang, I.J. & Summers, K. (2010) Genetic structure is correlated with phenotypic divergence rather than geographic isolation in the highly polymorphic strawberry poison-dart frog. *Mol Ecol*, 19, 447-458.

Weber, W. & Rabinowitz, A.R. (1996) A global perspective on large carnivore conservation. *Conservation Biology*, 10, 1046-1054.

Woodroffe, R. (2000) Predators and people: using human density to interpret declines of large carnivores. *Animal Conservation*, 3, 165-173.

Woodruff, D.S. (1989) Genetics and the conservation of animals in

fragmented habitats. In *Harmony with Nature. Proceedings of the International Conference on Tropical Biodiversity*. June 12-16, 1990. Malay Nature Society, Kuala Lumpur, Malaysia, 258-272.

Yasukochi, Y., Nishida, S., Han, S.H., Kurosaki, T., Yoneda, M. & Koike, H. (2009) Genetic structure of the asiatic black bear in Japan using mitochondrial DNA analysis. *J Hered*, 100, 297-308.

Yu, L., Li, Y.W., Ryder, O.A. & Zhang, Y.P. (2007) Analysis of complete mitochondrial genome sequences increases phylogenetic resolution of bears (*Ursidae*), a mammalian family that experienced rapid speciation. *BMC Evol Biol*, 7, 198.

Zachos, F.E., Otto, M., Unici, R., Lorenzini, R. & Hartl, G.B. (2008) Evidence of a phylogeographic break in the Romanian brown bear (*Ursus arctos*) population from the Carpathians. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, 73, 93-101.

Zane, L., Bargelloni, L. & Patarnello, T. (2002) Strategies for microsatellite isolation: a review. *Mol Ecol*, 11, 1-16.

Zedrosser, A., Dahle, B., Swenson, J.E. & Gerstl, N. (2001) Status and management of the brown bear in Europe. *Ursus*, 12, 9-20.

Zedrosser, A., Støen, O.G., Sæbø, S. & Swenson, J.E. (2007) Should I stay or should I go? Natal dispersal in the brown bear. *Animal Behaviour*, 74, 369-376.

*IUCN 2014 (International Union for Conservation of Nature)

*WPC ("World Population Clock – Worldometers") Worldometers.info

*UNS: United Nations Secretariat, Department of Economic and Social Affairs, *The World At Six Billion* (1999), p. 8.

*Protocol Macherey-Nagel

*BMP (Brown bear management plan for Romania) 2006

*MMSC: Ministerul Mediului și Schimbărilor Climatice

Această teză de doctorat a avut la bază finanțarea din următoarele proiecte și surse:

*POSDRU/159/1.5/S/134378

*Finanțare de bază: Proiect Nucleu 2012-2014: Monitorizarea stării de conservare a populației de urs din Carpații de Curbură și Carpații Occidentali/PN09460210 (în valoare de 200.000 euro): analize genetice. Cinegetică ICAS Brașov

*Universitatea Transilvania din Brașov – finanțare parțială deplasare la Universitatea din Cardiff

*Universitatea Transilvania din Brașov – grant de cercetare doctorală (6500 de lei)

*Universitatea din CARDIFF, Marea Britanie – training în statistica, landscape genetics, prelucrare de date genetice și bioinformatică, acces la programe informatice și servere de mare viteză

*Proiect Nucleu 2009-2011: Cercetări privind eco-etologia carnivorelor mari în contextul dezvoltării infrastructurii/ PN 09460304 – baza de date telemetrie. Cinegetică ICAS Brașov

*Proiect ICBIOL 2012-2015: Monitorizarea stării de conservare a speciilor de mamifere de interes comunitar – date efective de urs, bază de date GIS. Cinegetică ICAS Brașov

*Carpathian Large Carnivores Project și PIN-MATRA Project – baza de date GIS și telemetrie. Cinegetică ICAS Brașov

*Servicii de stabilire a stării de sanatate și analiza probelor genetice, în vederea stabilirii nivelului de înrudire și dispersie a indivizilor: 2014. R.N.P. ROMSILVA - Administrația Parcului Național Cozia R.A – baza de date genetice, bază de date telemetrie Valea Oltului, Universitatea Transilvania/Responsabil de proiect

*Cercetări privind estimarea populațiilor de carnivorelor mari și pisica salbatică și stabilirea nivelului de intervenție în România 2011-2014.

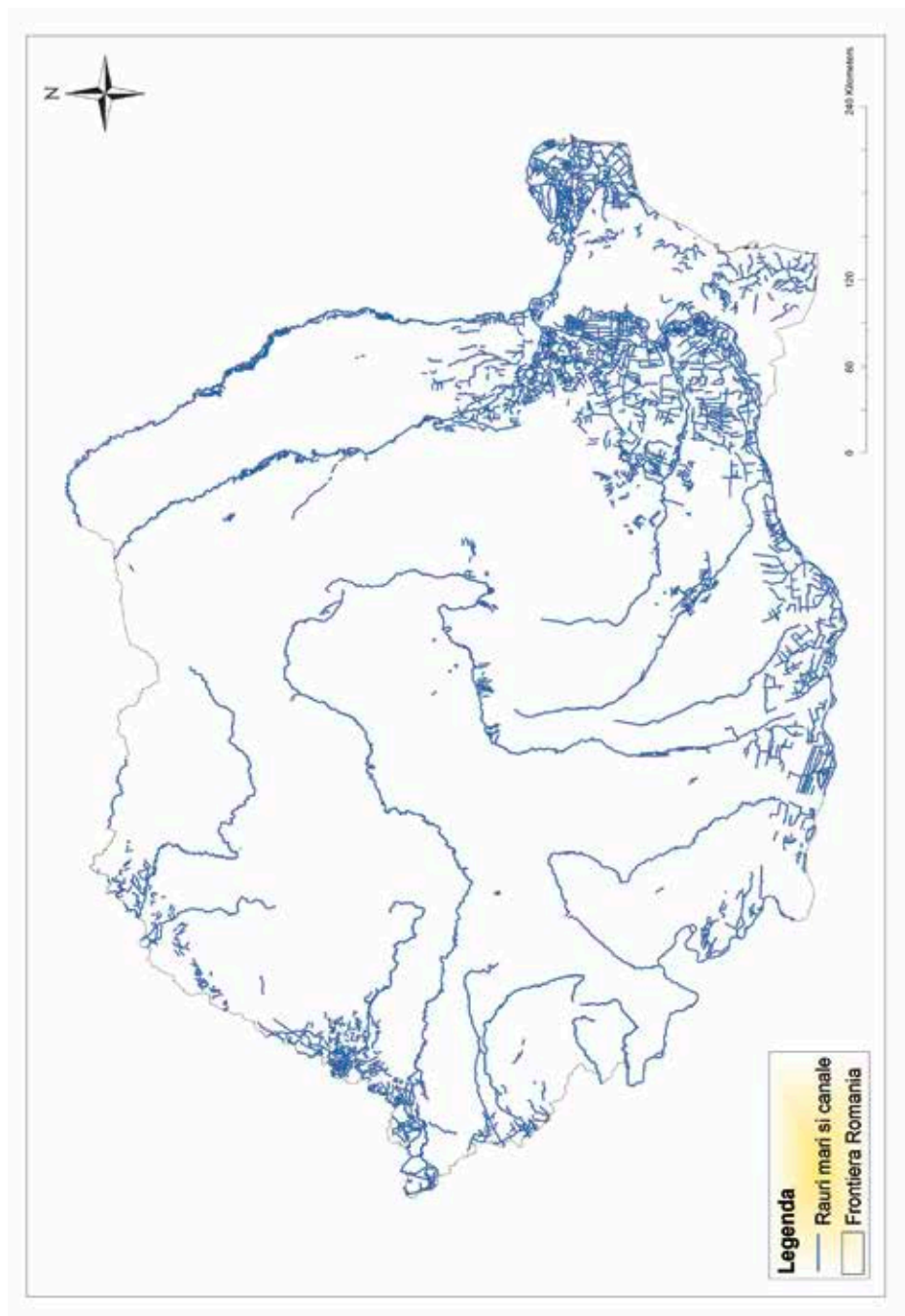
Cinegetică ICAS Brașov

*Dacia Plant – sponsorizare 1000 Euro

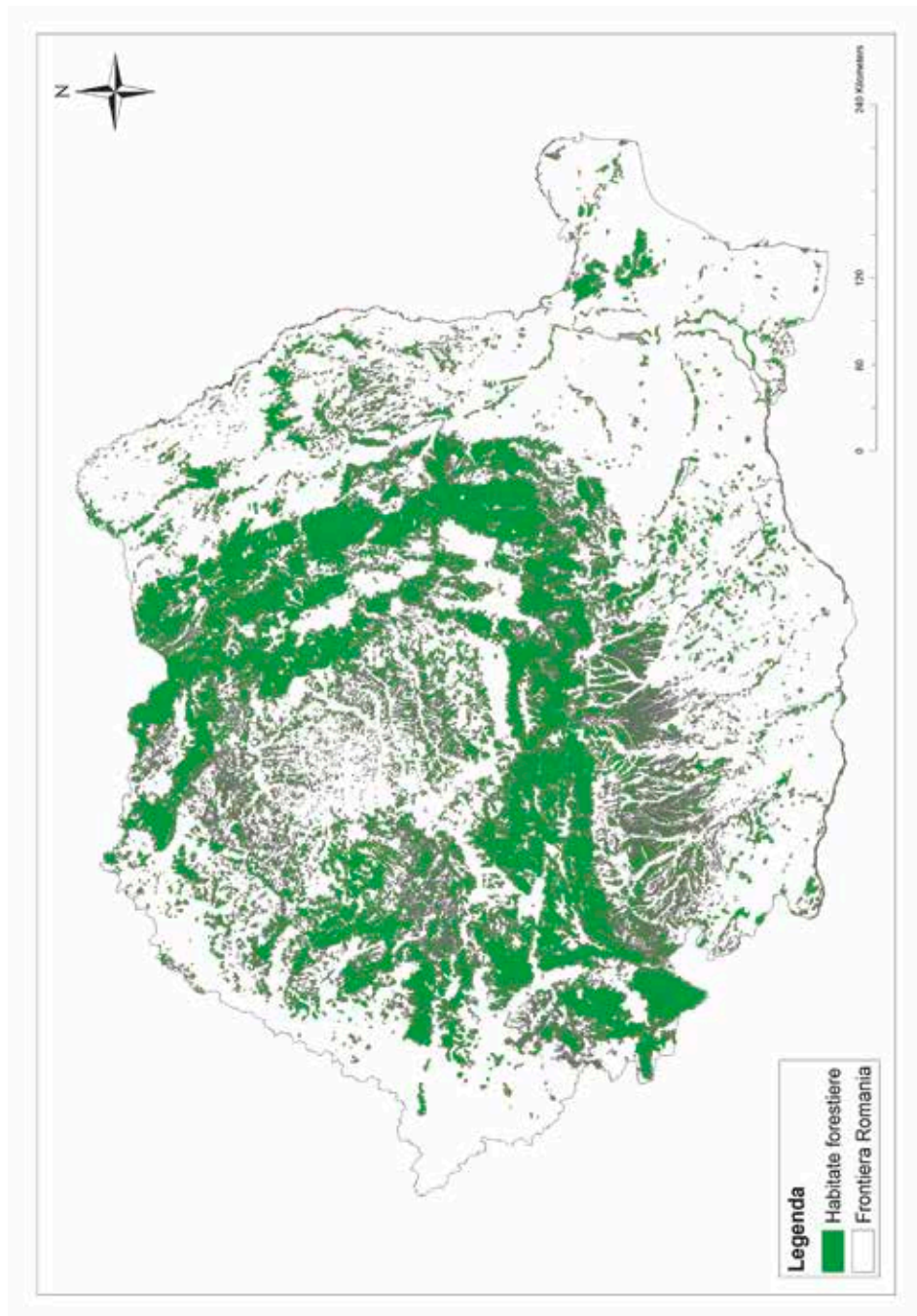
*CIC – sponsorizare 1000 Euro

*Secția CINEGETICĂ-ICAS Brașov - finanțare deplasări la conferințe, bază de date GIS, sisteme informatice

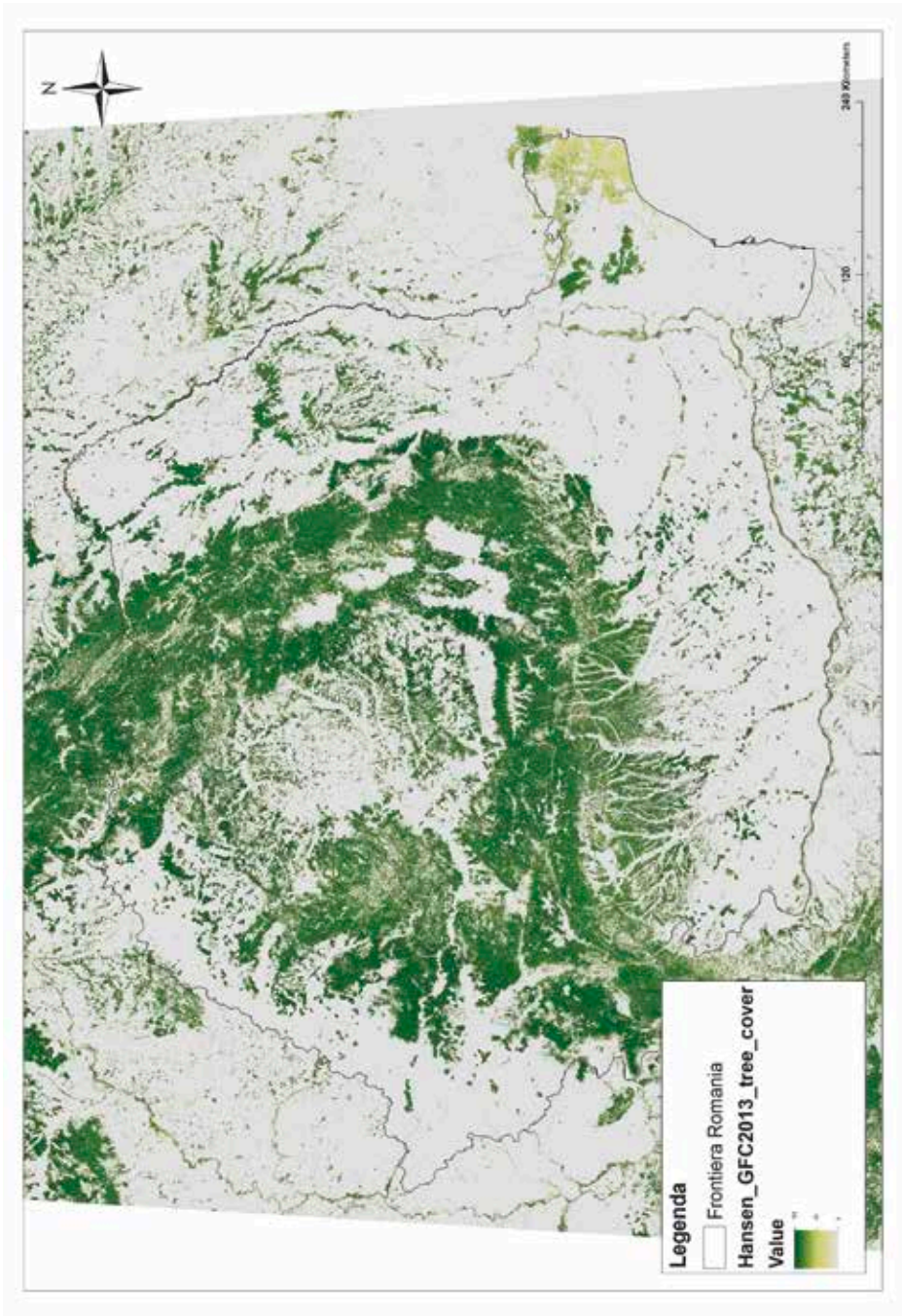
*Proiecte de cercetare din Laboratorul de Genetică Forestieră – finanțare parțială substanțe



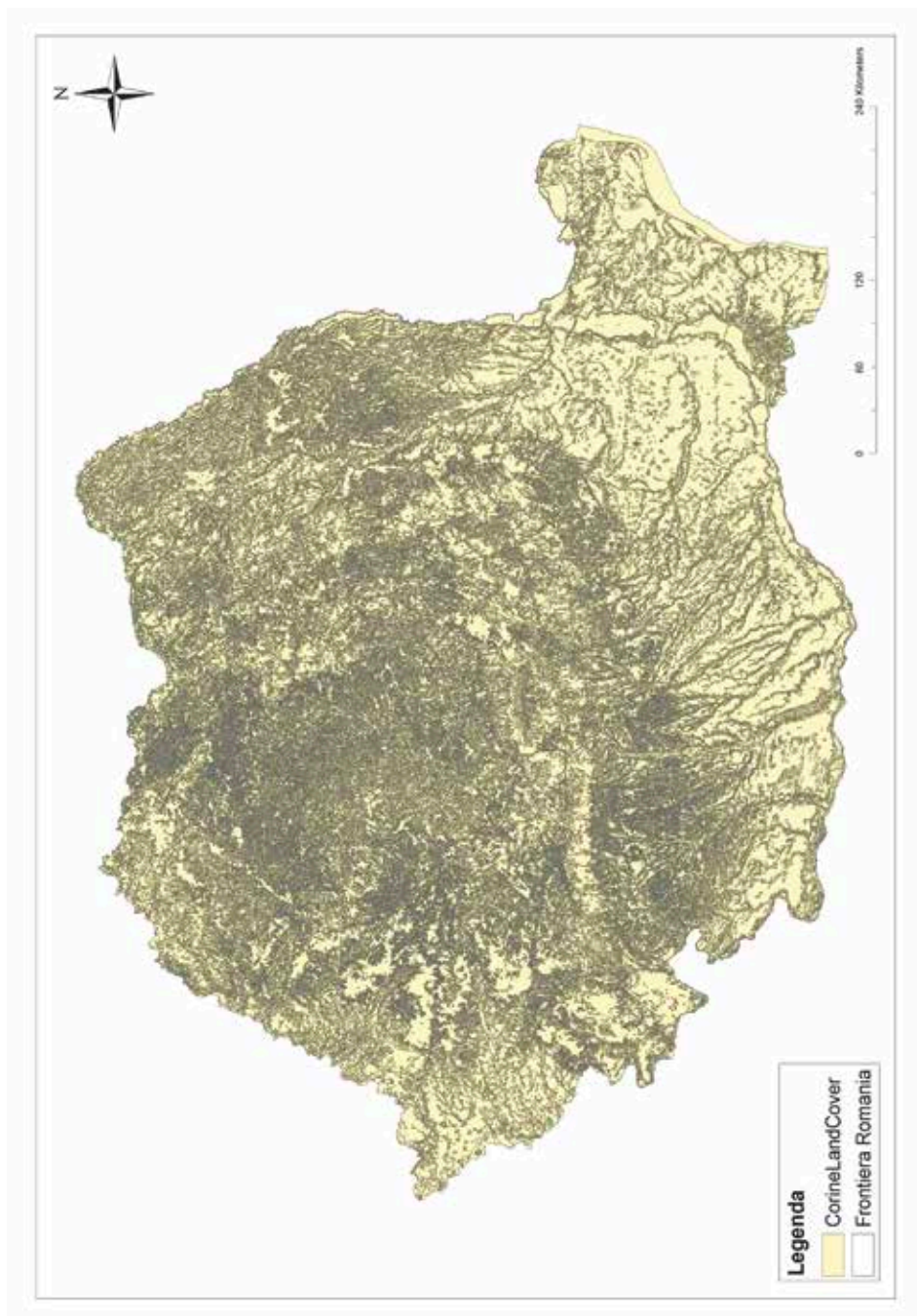
Anexa 1 – Harta raster a râurilor mari și a canalelor la nivel național



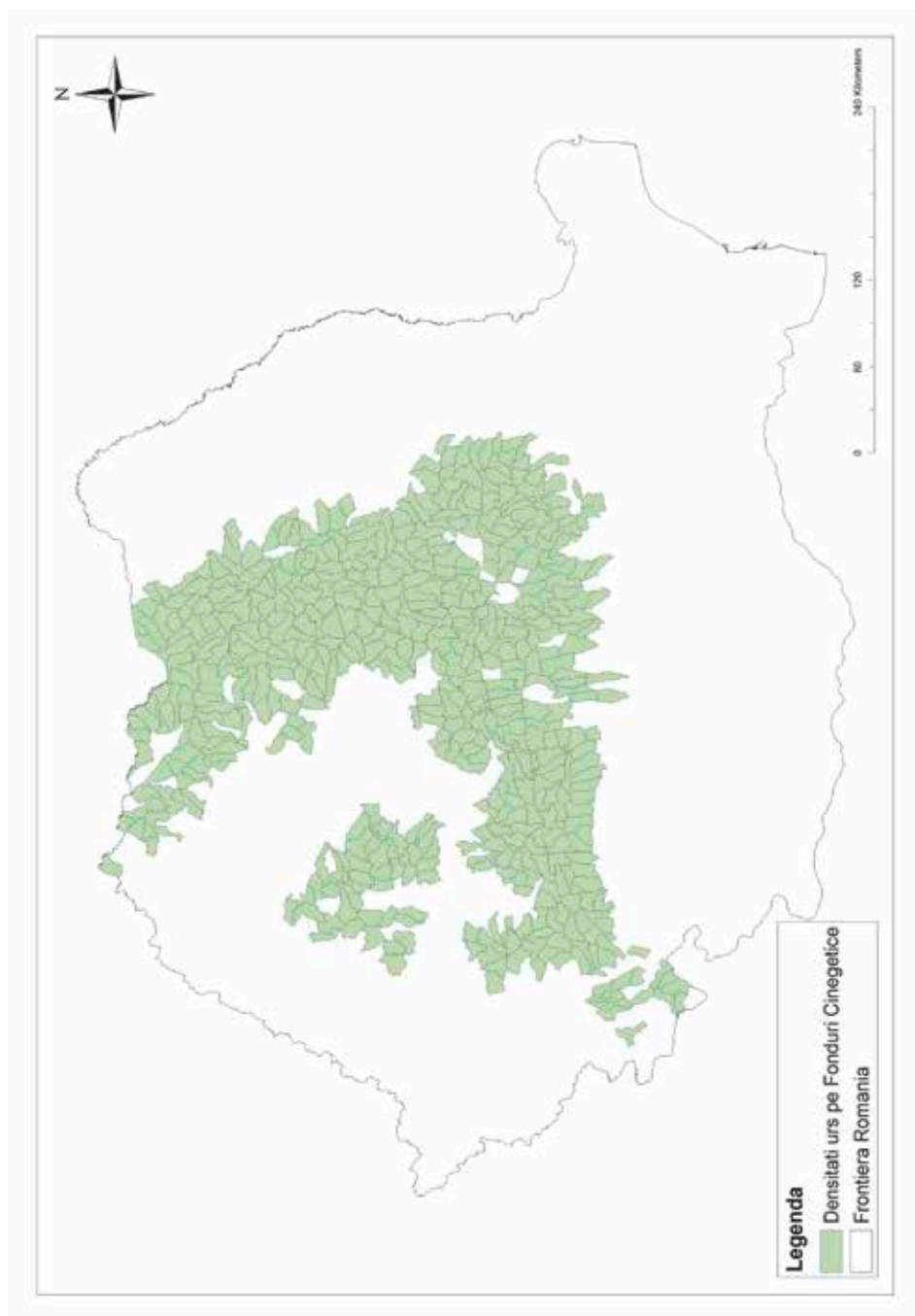
Anexa 2 – Harta raster a habitatelor forestiere la nivel național



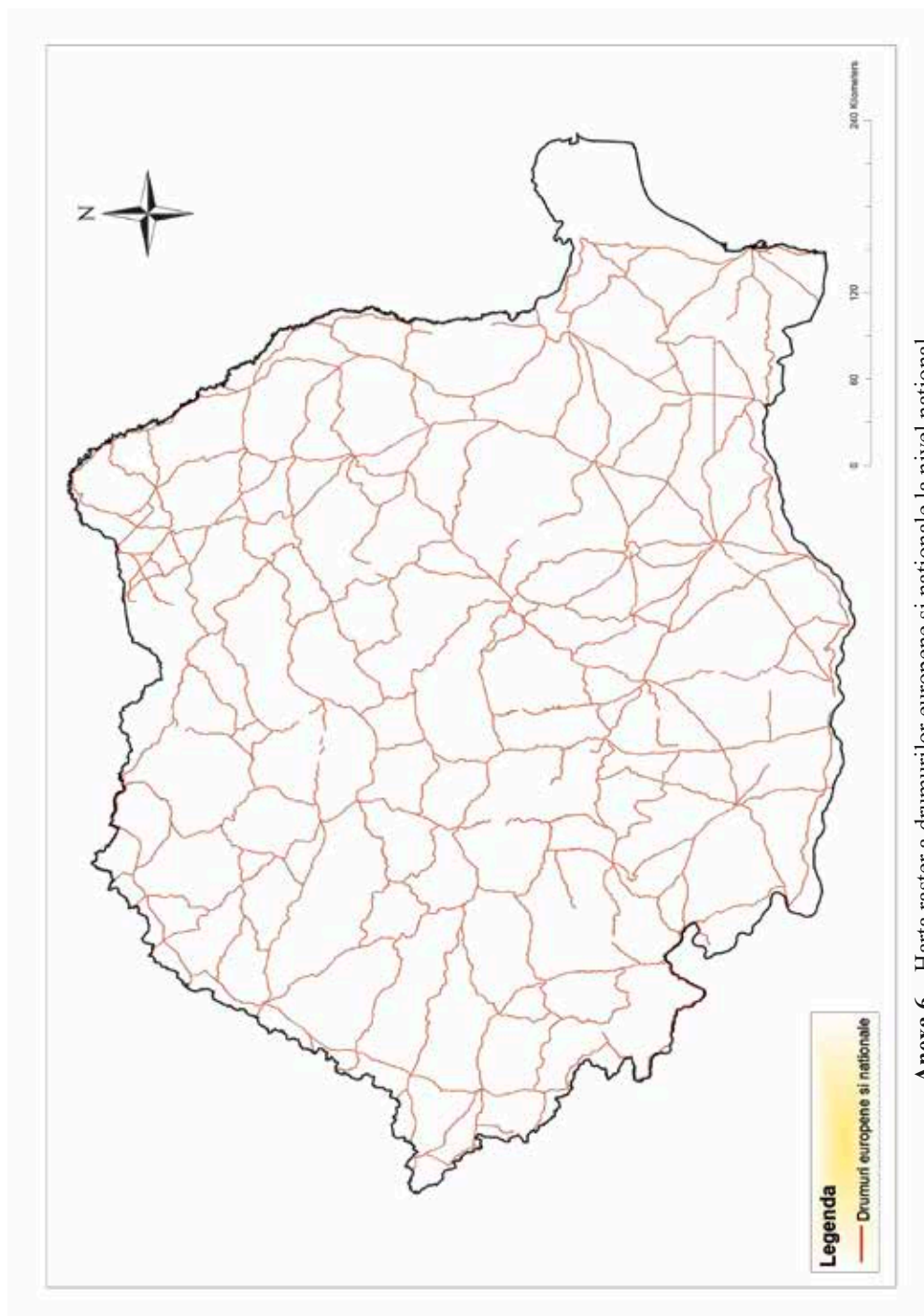
Anexa 3 – Harta raster a gradului de acoperire cu pădure la nivel național



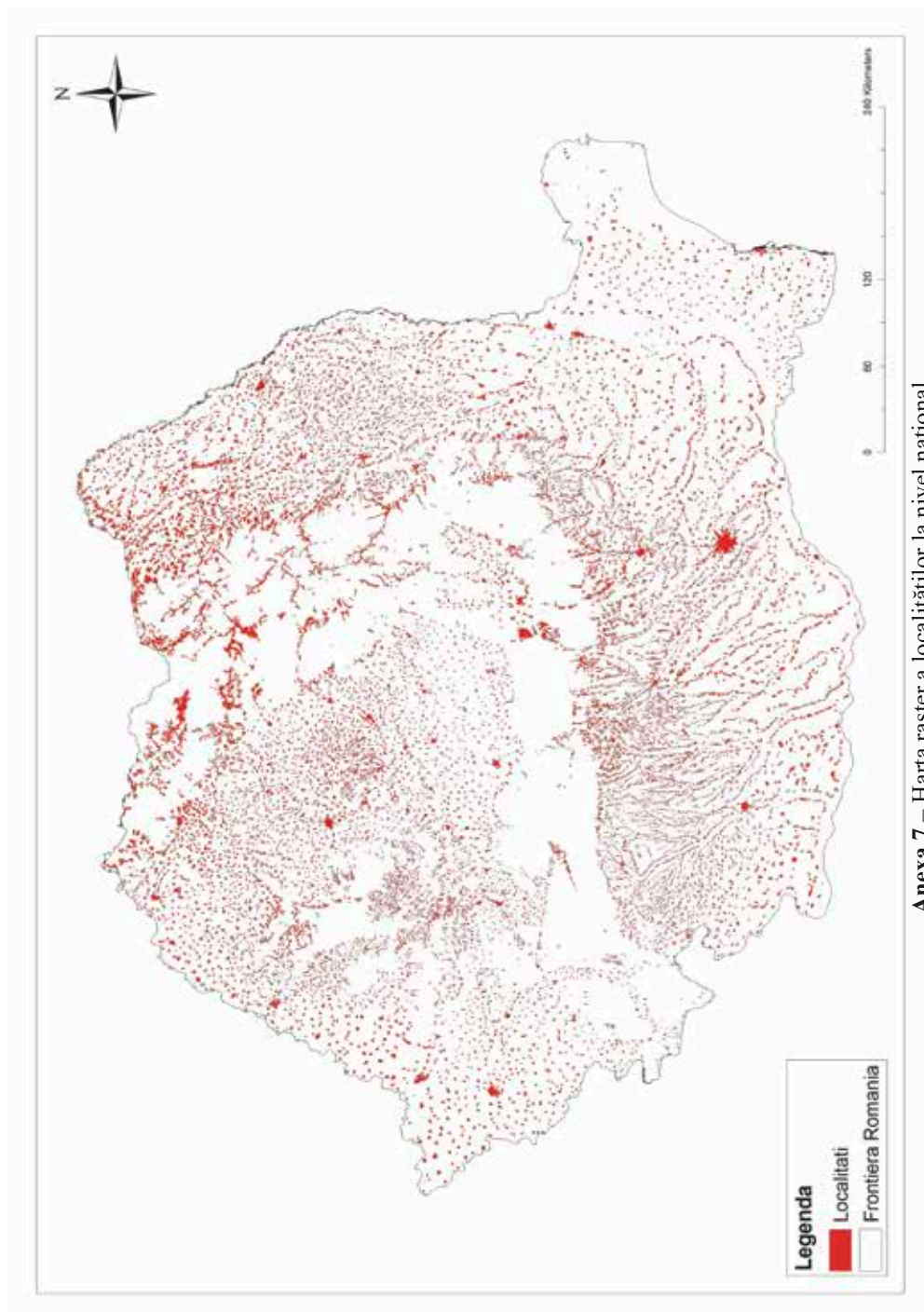
Anexa 4 – Baza de date raster Corine Land Cover



Anexa 5 – Harta raster a densităților urșilor (nr. indivizi/10000 ha) la nivel național



Anexa 6 – Harta raster a drumurilor europene și naționale la nivel național



Anexa 7 – Harta raster a localităților la nivel național

CURRICULUM VITAE RO

Date personale:

Nume și prenume: COTOVELEA Ancuța

Cetățenie: Română

Data nașterii: 23/04/1986

Domiciliu: Comuna Pucheni, Județul Dâmbovița, România

Telefon mobil: +40765353224; +40758099811

E-mail: ancutacotovelea@yahoo.com

Educație și formare profesională:

2011 - 2014 - Doctorand - Universitatea Transilvania din Brașov/ Facultatea de Silvicultură și Exploatari Forestiere

12/2013 - 03/2014 – Training în Bioinformatică/ Landscape genetics/ Genetica populațiilor/ Analiza statistică a datelor genetice – Cardiff University/ Cardiff School of Bioscience/ Organism and Environment Divison – sub îndrumarea Prof. Michael W Brufford - Marea Britanie

2009 - 2011 - Diplomă de master - Managementul Ecosistemelor Forestiere - Universitatea Transilvania din Brașov/ Facultatea de Silvicultură și Exploatari Forestiere

01/08/2010 - 11/09/2010 - Training în Genetică animală - Technicka Univerzita vo Zvolene - sub îndrumarea Prof. dr. Ladislav Paule - Slovacia

2005 - 2009 - Diplomă de inginer - Universitatea Transilvania din Brașov/ Facultatea de Silvicultură și Exploatari Forestiere

2001 - 2005 - Diplomă de bacalaureat - Liceul Teoretic "Dan Barbilian", Câmpulung, Argeș - România

Limbi străine: Engleză (Nivel C2), Franceză (Nivel B1), Rusă (Nivel B1)

Experiență profesională:

07/2012 – prezent - Inginer cercetare – Institutul de Cercetări și Amenajări Silvice

2012 – prezent - Responsabilă proiect de cercetare internațional – ICAS Brașov

2013 – prezent - Responsabilă proiect de cercetare național – ICAS Brașov

2014 – prezent - Responsabilă contract de cercetare – Universitatea Transilvania din Brașov

2012 – prezent - Membră în echipele de cercetare a 14 proiecte naționale și contracte de cercetare

Publicații:

- A. Lucrări publicate în reviste ISI: 3 (din care care 1 acceptată spre publicare (prim autor) și 1 în analiza spre publicare (prim autor))
- B. Lucrări publicate în reviste indexate BDI/B+: **4 (prim autor)**
- C. Lucrări publicate în proceedings-urile conferințelor internaționale: 1
- D. Lucrări prezentate la conferințe și simpozioane internaționale: 12

CURRICULUM VITAE ENG

Personal data:

Name and surname: COTOVELEA Ancuța

Nationality: Romanian

Date of birth: 23/04/1986

Address: Pucheni, Dambovita county, Romania

Mobile phone: +40765353224; +40758099811

E-mail: ancutacotovelea@yahoo.com

Education:

2011 - 2014 - Doctoral studies - Transylvania University of Brasov/ Faculty of Silviculture and Forest Engineering

12/2013 - 03/2014 – Training courses in Bioinformatics/ Landscape genetics/ Population genetics/ Statistical analysis of the genetic dataset – Cardiff University/ Cardiff School of Bioscience/ Organism and Environment Division – Prof. Michael W Brufford – Great Britain

2009 - 2011 – Master diploma in Management of Forest Ecosystems - Transylvania University of Brasov/ Faculty of Silviculture and Forest Engineering

01/08/2010 - 11/09/2010 - Training courses in Animal Genetics - Technicka Univerzita vo Zvolene - Prof. dr. Ladislav Paule - Slovacia

2005 - 2009 - Diploma Engineer in Forestry - Transylvania University of Brasov/ Faculty of Silviculture and Forest Engineering

Foreign languages: English (C2), French (B1), Russian (B1)

Professional experience:

07/2012 – Research engineer – Forest Research and Management Institute (ICAS Brasov) - Wildlife Division

2012 – Coordinator of an international research project for the partner ICAS Braşov

2013 – Coordinator of a national research project – ICAS Braşov

2014 – Coordinator of a research contract – Transylvania University of Brasov

2012 – Member of the research teams of 14 national and international research projects or contracts

Publications:

- A. Papers published in SCI journals: 3 (1 accepted for publication and 1 in press)
- B. Papers published in indexed BDI/B+ journals: **4 (first author)**
- C. Papers published in proceedings of international conferences: 1
- D. Papers presented at international conferences and symposia: 12



Cea mai mare populație din Europa este supusă riscului fragmentării, în contextul dezvoltării infrastructurii, determinarea variabilității genetice și stabilirea setului de măsuri necesare pentru asigurarea conectivității habitatelor, reprezintă fundamente ale conservării pe termen lung a ursului brun.

S-a constatat existența unei singure populații cu o diversitate genetică ridicată de-a lungul Carpaților, rezultat confirmat prin analiza bayesiană. În schimb, structura de familie a urșilor habituați reprezintă o amenințare asupra echilibrului său genetic, pe termen lung existând pericolul apariției de exemplare degenerate, ca urmare a consangvinizărilor repetate posibile.

S-a confirmat utilitatea corelogramei Mantel în determinarea mediei lățimilor și lungimilor poligonului convex care reprezintă home range-ul femelelor analizate. Aplicarea testului Mantel, testului Parțial Mantel și analiza regresiei multiple a indicat influența râurilor, pantei, expoziției nord-estice și a drumurilor cu trafic intens asupra mișcării indivizilor de urs. Predicția fluxului gene rezultată din modelarea factorilor amintiți fără factorul râuri (corelat cu factorul drumuri) a indicat reducerea acestuia de-a lungul a patru zone: Valea Prahovei, Valea Oltului, Praid-Piatra Neamț și Bistrița-Suceava și existența unor zone favorabile traversării infrastructurii.

Confirmarea prin intermediul telemetriei, a existenței unor astfel de zone de funcționare a fluxului genic, așa cum este în cazul drumurilor: DN1, DN1A, culoarul Rucăr-Bran și Bistrița-Suceava, accentuează importanța menținerii conectivității habitatelor. Acest studiu scoate în evidență puterea ridicată a metodei aplicate în detectarea proceselor genetice la scară fină într-o populație mare, continuă, acum când impactul infrastructurii rutiere asupra populațiilor sălbatice tocmai a devenit o problemă serioasă.