



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Unidad Académica Mazatlán



Universidad Nacional Autónoma de México

Estructura genética poblacional de la tortuga verde,
Chelonia mydas, en el golfo de México determinada por
análisis de secuencias del ADN mitocondrial

T E S I S

que para obtener el grado académico de:

MAESTRO EN CIENCIAS
(Biología Marina)

Presenta:

Olivia Guadalupe Millán Aguilar

Director de Tesis:

Dr. F. Alberto Abreu-Grobois

Comité Tutorial:

Presidente: Dr. Daniel Piñero Dalmau

Vocal: Dr. Luis Medrano González

Suplente: Dra. Alejandra García Gasca

Suplente: Dr. Hugo Aguirre Villaseñor

Mazatlán, Sin. Enero de 2009.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

*“La gratitud es el único secreto que no puede revelarse por sí mismo”
(Emily Dickinson)*

A mi Director de tesis, el Dr. F Alberto Abreu-Grobois, por aceptarme en su laboratorio, darme un espacio, y otorgarme las bases para lo que fue todo mi desarrollo durante la maestría. Le agradezco, Abreu, la paciencia, las discusiones académicas, y el enseñarme el valor de la tolerancia.

A los cuatro miembros de mi Comité tutorial (sin estricto orden): Dra. Alejandra García Gasca, Dr. Daniel Piñero Dalmau, Dr. Hugo Aguirre Villaseñor y Dr. Luis Medrano González, primeramente por haber aceptado ser parte de mi Comité, y en segundo por sus comentarios e invaluable sugerencias a este proyecto; porque me enriquecieron en cada tutorial y a lo largo de este tiempo; porque siempre atendieron a mis dudas de la mejor manera, y porque dieron solidez a este trabajo con su sabiduría.

A la técnico académica titular del Laboratorio de Genética del Instituto, la M. en C. Ma. de los Ángeles Herrera Vega, por enseñarme y auxiliarme en las técnicas de extracción, amplificación y purificación del ADN. Pero además, por su amistad y por hacerme ver siempre que no estoy sola en esta batalla en contra del maltrato hacia los animales. ¡Gracias, Mary!

Al proyecto “Estructura genética poblacional de la tortuga verde, *Chelonia mydas*, en el golfo de México y Caribe determinada por marcadores moleculares” (clave CONACYT-FOSEMARNAT-2004-01-353), del que surgió la presente tesis, y mismo que está bajo la responsabilidad del Dr. F. Alberto Abreu-Grobois.

Un reconocimiento muy especial para aquéllas personas que están detrás de este trabajo, a los colaboradores que con su esfuerzo y gentileza recolectaron las muestras: Eduardo Cuevas de Pronatura Península de Yucatán, A.C. (Yucatán); Vicente Guzmán-Hernández, Dirección del Área de Protección de Flora y Fauna “Laguna de Términos” (CONANP; Isla del Carmen, Campeche); Rafa Bravo-Gamboa, Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano (CONANP; Veracruz, Ver.); Jaime Peña y Gladys Porter (Zoo, Texas, EUA); y a Héctor Martínez (CONANP; Tamaulipas).

A los responsables de ese espacio en el Instituto donde el buen gusto musical se diluye con la Ciencia, y en donde en cada libro gotea el aroma de un exquisito café: la Biblioteca. A Clara Ramírez Jáuregui, quien siempre me ayudó a conseguir los libros y artículos existentes y hasta los que yo quería que existieran. A Pedro de igual forma por auxiliarme cuando lo necesité, por la amistad y la confianza, y por ser ejemplo envidiable de excesiva paciencia (Peter, cuando sea grande, quiero tener tu mismo temple).

A los encargados del lugar del Instituto donde las noticias se tejen incluso antes de suceder: el informativo Centro de Cómputo. A Germán Ramírez Reséndiz, Carlos Suárez Gutiérrez y Herlinda Virgen, que siempre me ayudaron incluso cuando no era su obligación.

A todo el personal administrativo del Posgrado tanto de Mazatlán como de la Cd. de México, que permitió que los trámites a realizar me resultaran más leves: en el D.F. a Lupita Godoy, Diana Juárez y Gabriela Almaraz; en Mazatlán a Marcela Cisneros, a Natalia Medina, y a Margarita Cordero, quien estuvo en cada instante en que solicité su ayuda.

A estudiantes y compañeros que de una u otra forma lograron hacerme reír, por las pláticas interesantes (y unas no tanto), por los conocimientos compartidos (entre comillas). En orden alfabético: a Adriana, Dilian, Hilda, Luis, Misael, Nadia, Neptalí, Ricardo y Soledad. Gracias porque permitieron que mi sarcasmo tomara fuerza gracias a sus personalidades.

A estas grandes y geniales personas: Celsy y Doris que comprendieron y estuvieron siempre; a Mine por las carcajadas y la confianza; a Diego por las desveladas con café, y por servirme como “punching bag” cuando lo necesité; a Efe, porque *la locura es esa ilusión elevada a la segunda potencia* (H.A.); y finalmente al fantasma de Ibargüen, por el café que nunca llega, por la amistad, el conocimiento y las madrugadas de música e imágenes bizarras.

Un agradecimiento especial a dos de las personas más significativas en mi vida, cuya inteligencia y bondad no conocen de límites: a mi querida Margaret por manifestarme que siempre, pese a cualquier cosa, estará a mi lado; y a mi entrañable amiga Gis porque no ha habido momento difícil en que no esté conmigo, y por ser mi hermana por convicción. Gracias a las dos porque me han demostrado que el término *familia* va más allá de la sangre.

Finalmente, y no por ello menos importante, a Olivia Aguilar C., antes que nada por donar la mitad del material genético necesario para mi formación; porque al darme las bases de la educación, me dejó seguir sola sorteando todo lo que aguarda el vivir; y porque la única obligación que me dio, es la de ser independiente. ¡Gracias madre!

Y como este espacio es una oportunidad de libertad, agradezco (en orden de aparición) a Sibelius, Sofía, Diego, Beppo, Tacis, Zara, Gínger y al anónimo, por recordarme todos los días, a las 5:00 am, que la vida debe continuar.

*“Para las personas creyentes, Dios está al principio.
Para los científicos, el principio está al final de todas sus reflexiones”
(Max Planck)*

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Biología de la especie	1
1.1.1. Taxonomía	1
1.1.2. Hábitat	2
1.1.3. Alimentación	2
1.1.4. Ciclo de vida	2
1.1.5. Comportamiento reproductivo	4
1.1.6. Anidación	5
1.2. Distribución	5
1.2.1. Mundial	5
1.2.2. En México	5
1.3. Genética de la conservación	6
2. ANTECEDENTES	10
2.1. Estructura genética de las poblaciones	10
2.2. Análisis de Stocks Mezclados. Contribución de las colonias a sitios de agregación marina	18
2.3. Comparación entre marcadores moleculares: ADNmit vs ADNn	22
2.4. Otras especies	24
3. JUSTIFICACIÓN	27
4. OBJETIVOS	30
4.1. Objetivo general	30
4.2. Objetivos específicos	30
5. ÁREA DE ESTUDIO.	31

6. METODOLOGÍA	33
6.1. Obtención de las muestras	33
6.2. Método de extracción de ADN de las muestras	34
6.3. Evaluación y estandarización del ADN	35
6.4. Amplificación de la región control por PCR, purificación y secuenciación	35
6.5. Análisis de datos	36
6.5.1. Evolución de las secuencias en la Cuenca del Atlántico	36
6.5.2. Diversidad intrapoblacional	37
6.5.3. Diferenciación entre poblaciones	38
6.5.4. Estructura genética	39
6.5.5. Historia demográfica de las poblaciones	40
6.5.6. Evaluación de la contribución de stocks mezclados a hábitats de alimentación	41
7. RESULTADOS	42
7.1. Características genéticas de las poblaciones	42
7.1.1. Composición haplotípica	42
7.2. Patrones evolutivos de los genes	47
7.2.1. Reconstrucción de redes haplotípicas	47
7.2.2. Modelos filogenéticos para los haplotipos	52
7.3. Diferenciación interpoblacional	54
7.3.1. Análisis de diferenciación interpoblacional: pruebas de diferenciación	54
7.4. Variación temporal dentro de poblaciones	55
7.5. Identificación de Unidades de manejo	59
7.6. Identificación de la estructura genética	64
7.6.1. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA)	64
7.6.2. Identificación de barreras genéticas	67
7.6.3. Niveles de Flujo génico (Nm)	71
7.6.4. Identificación de Unidades de Manejo (UM)	73
7.7. Identificación de los procesos evolutivos involucrados	76
7.7.1. Variabilidad genética	76
7.7.2. Historia demográfica	78
7.7.3. Modelo de aislamiento por distancia	81

7.8. Contribución de las UM a los sitios de agregación marina regionales	83
7.8.1. Análisis de Stocks Mezclados	83
8. DISCUSIÓN	93
8.1. Caracterización genética de las poblaciones	93
8.2. Modelo de sustitución nucleotídica aplicado al conjunto de secuencias obtenidas	97
8.3. Diferenciación temporal y geográfica dentro y entre poblaciones	98
8.4. Barreras geográficas e identificación de Unidades de Manejo.....	103
8.5. Flujo génico a escalas evolutivas e historia demográfica	107
8.6. Modelos para los patrones filogeográficos de la variación genética	110
8.7. Contribución de las UM a los sitios de agregación marina regionales	115
9. CONCLUSIONES	122
10. RECOMENDACIONES	123
11. GLOSARIO	124
12. BIBLIOGRAFÍA	131
13. ANEXOS	146
I. Colección y preservación (sin refrigerar) de tejido sólido para análisis genético del ADN	146
II. Colección y preservación (sin refrigerar) de sangre para análisis genético del ADN	147
III. Extracción de ADN utilizando Cloruro de Litio (LiCl)	148
IV. Método de densitometría para medir concentración de ADN	150
V. Protocolo de purificación de productos de PCR con el Kit MinElute de Qiagen..	151
VI. Base de datos de las muestras generadas para la investigación	152

No.	ÍNDICE DE FIGURAS	Pág.
1	Ciclo de vida generalizado para las tortugas marinas.	3
2	Localización de los sitios de muestreo y el tamaño poblacional de cada colonia de anidación (medida por número de nidos por año).	30
3a	Relaciones evolutivas entre haplotipos de la tortuga verde en el Atlántico y Mediterráneo a través del proceso TCS.	49
3b	Relaciones evolutivas entre haplotipos de la tortuga verde en el Atlántico y Mediterráneo a través del proceso TCS, rompiendo los doce anillos identificados en la Figura 3a.	50
4	Árbol enraizado de los haplotipos identificados para <i>C. mydas</i> en el golfo de México, Atlántico y Mediterráneo, bajo el algoritmo Neighbor-Joining (NJ).	52
5	Relación entre los valores de F_{ST} convencional (Wright, 1951) y Φ_{ST} de Tamura (Tamura, 1992; Kumar <i>et al.</i> , 1993), incluyendo únicamente las colonias del golfo de México.	62
6	Relación entre los valores de F_{ST} convencional (Wright, 1951) y Φ_{ST} de Tamura (Tamura, 1992; Kumar <i>et al.</i> , 1993), incluyendo el total de colonias dentro del Gran Caribe.	62
7	Diagrama de Voronoi representando las seis barreras geográficas entre poblaciones identificadas con el programa Barrier (Manni <i>et al.</i> , 2004).	69
8	Representación gráfica de los haplotipos encontrados en las poblaciones estudiadas en este proyecto, comparadas con el resto de colonias que componen el Gran Caribe.	74
9	Relación entre los valores de diversidad genética (nucleotídica y haplotípica) de todas las UM del Atlántico.	76
10a-h	Distribuciones Mismatch para las UM dentro del Caribe Occidental (desde Florida hasta Costa Rica) y para el golfo de México como una sola unidad.	79
11a-b	Diferenciación genética entre las poblaciones de <i>C. mydas</i> por un modelo de aislamiento por distancia, abarcando las colonias desde Florida hasta Costa Rica.	81
12a-h	Resultados del Análisis de Stocks Mezclados usando los métodos UML y Many-to-many, este último bajo dos modalidades: (1) sin considerar las abundancias y (2) considerándolas.	88
13a-k	Resultados del Análisis de Stocks Mezclados usando el método Many-to-many bajo dos modalidades: (1) sin considerar las abundancias y (2) considerándolas midiendo cuánto contribuye cada UM a todos los sitios de alimentación del Atlántico.	92
14	Patrón de corrientes oceanográficas que confluyen en la región del golfo de México.	115

No.	ÍNDICE DE TABLAS	Pág.
1	Ubicación geográfica de las playas de anidación que serán muestreadas.	31
2	Total de muestras recibidas durante las dos temporadas (2005-2006).	33
3	Composición haplotípica para colonias de tortuga verde en el golfo de México.	44
4	Frecuencias haplotípicas (%) para colonias de tortuga verde en el golfo de México.	45
5	Valores de F_{ST} convencional basados en frecuencias haplotípicas entre pares de poblaciones de <i>C. mydas</i> del golfo de México separados por temporadas; y valores de probabilidad estadística.	56
6	Valores de Φ_{ST} basados en distancias genéticas mediante el método de Tamura entre pares de poblaciones de <i>C. mydas</i> del golfo de México separados por temporadas; y valores de probabilidad estadística.	57
7	Valores de F_{ST} convencional basados en frecuencias haplotípicas entre pares de poblaciones de <i>C. mydas</i> del Gran Caribe, Atlántico y Mediterráneo; y valores de probabilidad estadística.	59
8	Valores de Φ_{ST} basados en distancias genéticas mediante el método de Tamura entre pares de poblaciones de <i>C. mydas</i> del Gran Caribe, Atlántico y Mediterráneo; y valores de probabilidad estadística.	60
9	Análisis de Varianza Molecular para determinar estructura entre distintas agrupaciones de colonias de tortuga verde en el Atlántico y las objeto de este estudio.	65
10	Índices de fijación correspondientes a los grupos de poblaciones identificados a través del SAMOVA.	67
11	Valores de flujo génico (Nm) entre todas las colonias de tortuga verde en el golfo de México, resto del Atlántico y Mediterráneo.	71
12	Unidades de Manejo identificadas en este estudio (4) y en conjunto con el resto de colonias de <i>C. mydas</i> a lo del Atlántico (7).	74
13	Diversidad de la región control del ADNmit para las cuatro UM de nuestro estudio, comparada con el resultado de todas las reconocidas en el Atlántico.	76
14a-b	Parámetros obtenidos con el análisis de distribuciones Mismatch para las UM identificadas dentro del Gran Caribe Oriental (a) y para las colonias del golfo de México unidas en una sola población (b).	78
15	Tamaños de las poblaciones de tortuga verde (hembras/año) de acuerdo a las UM identificadas en este estudio.	85
16	Niveles de contribución de las diferentes UM de tortuga verde en el golfo de México, resto del Atlántico y Mediterráneo identificadas en este estudio a los diferentes sitios de alimentación ubicados a lo largo del Atlántico	86

RESUMEN

A pesar de ser una especie en peligro de extinción, varias colonias de tortuga verde *Chelonia mydas*, exhiben señales de recuperación con crecimiento significativo. Para conocer la estructura genética de las poblaciones de tortuga verde en el golfo de México y cómo se contribuyen a los sitios de alimentación de la región, se analizó la distribución geográfica de la variación de un segmento de aprox. 800 pb de la región control del ADNmit en 333 individuos de 10 colonias de anidación a lo largo del golfo de México, durante las temporadas 2005 (n=127) y 2006 (n=206). El segmento amplificado permitió identificar 2 haplotipos nuevos, variantes de los haplotipos CM-A1 y -A18 por una inserción/delección en la región nueva. Para comparar con trabajos previos de la especie, se usaron sólo los primeros 483 pb que resolvieron un total de 7 haplotipos; 6 de ellos previamente reportados para la especie, y uno que resultó endémico en nuestro país. Los análisis de diferenciación interpoblacional (F_{ST} y Φ_{ST}), de Varianza Molecular (AMOVA), y los niveles de flujo génico (Nm) entre poblaciones, mostraron una fuerte estructura en las colonias, indicando la presencia de 4 Unidades de Manejo. Los índices de diversidad genética (h y π) se encontraron dentro de la gama de valores reportados para la especie en el Atlántico, con valores en el límite superior en las colonias insulares ($h > 0.5$; $\pi > 0.004$). El análisis de las distribuciones Mismatch arrojó que las UM ubicadas en el norte del Caribe Occidental han sufrido una expansión reciente, y el resto se encuentran en crecimiento constante. El modelo de aislamiento por distancia dio no significativo ($P=0.2$) entre las UM dentro del Caribe Occidental. El análisis de Stocks Mezclados indicó que la mayor parte de las poblaciones estudiadas se dispersan para alimentarse en fases pre-adultos a sitios dentro del Gran Caribe, principalmente en la costa sureste de Estados Unidos, disminuyendo al considerar los tamaños poblacionales a razón de hembras/año.

ABSTRACT

Despite being an endangered species, several rookeries of green turtle, *Chelonia mydas*, exhibits signs of recovery with significant growth. To understand the level of demographic independence among rookeries, the genetic structure of the species needs to be understood. Our goal was to ascertain the genetic structure of nesting populations in the Gulf of Mexico and how these contribute to the feeding aggregations in the Atlantic basin. We analyzed the geographic distribution of the sequence variation for 800 bp a segment of the mtDNA control region in 333 individuals from 10 nesting colonies sampled during the 2005 (n=127) and 2006 (n=206) breeding seasons. The segment amplified is larger than the commonly used segment (483 bp). We identified 2 new haplotypes variants for CM-A1 and -A18. To compare with previous studies, we used the first 483 bp that resolved a total of 7 haplotypes, 6 previously described for the species within the Greater Caribbean, with only one endemic to our country. Results for genetic differentiation (F_{ST} y Φ_{ST}), molecular variance (AMOVA), and gene flow (Nm) among populations, reflecting a strong structure among the colonies with 4 Management Units. Haplotype and nucleotide diversities (h and π) were within the range of values reported for the species in the Atlantic, but these values for both island rookeries were in the upper range ($h > 0.5$; $\pi > 0.004$). The Mismatch distributions to elucidate models of population expansion indicated that the UM located in the northern West Caribbean had a recent expansion, while the rest would be at equilibrium. Isolation was not significant ($P=0.2$) among the UM within the Western Caribbean. Mixed Stock Analyses indicated that most of the populations from Gulf of Mexico disperse to feed as pre-adult at foraging sites within the Great Caribbean, mainly on the SE coast of the United States. When population sizes are considered (female/year), the largest regional rookery remains the greater contributor.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Biología de la especie.

1.1.1. Taxonomía.

Aunque en general las especies de tortugas marinas fueron descritas en 1758 por Linnaeus como *Testudo mydas*, no fue sino hasta 1868 que Bocourt define el género *Chelonia*.

Chelonia mydas (Linnaeus, 1758).

Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Sub-Phylum	Vertebrata
Clase	Reptilia
Orden	Testudines
Familia	Cheloniidae
Género	<i>Chelonia</i>
Especie	<i>Mydas</i>

Los nombres comunes son Green Turtle (inglés); Tortuga Blanca, Verde, Caguama (en el Caribe); Aruana, Suruana, en Brasil (portugués); Tortue Verte (francés); Suppenschildkröte (alemán).

La morfología esquelética del cuerpo de las tortugas marinas tiene características muy especiales, ya que la concha se forma con el crecimiento de placas óseas de origen dérmico que se fusionan dorsalmente a las costillas y a las vértebras, formando una dura bóveda; ésta se continua lateralmente en la parte ventral, con el plastrón, que en las tortugas terrestres está totalmente soldado al carapacho y en las marinas se encuentra solamente articulado en los puentes, por medio de tejido conectivo cartilaginoso, mismo que le permite cierta distensión en dirección vertical, facilitando los movimientos de la respiración.

Entre las órbitas de los ojos, *Chelonia mydas* tiene un sólo par de escamas prefrontales alargadas, pico aserrado, y trece escudos mayores en el carapacho, delgados flexibles y lisos, que incluyen cinco centrales y cuatro pares de laterales; usualmente 12 pares de escudos marginales. En el plastrón presentan cuatro pares de escudos inframarginales, sin poros. Los juveniles conservan una quilla que desaparece con la edad. Cada aleta tiene una sola uña visible (Pritchard y Mortimer, 1999).

Es la más grande de las tortugas marinas de concha dura y, después de la laúd (*Dermochelys coriacea*), es la más grande de las siete especies. Su caparazón presenta una gran variación de color de individuo a individuo, aunque generalmente se observa

cada escudo con una coloración más clara, partiendo de él estrías irregulares de color claro sobre café negro o verde. En su cabeza relativamente pequeña se observan escamas simétricas.

La tortuga verde recibe este nombre por la grasa acumulada debajo del caparazón, misma que le da el tipo de alimentación principalmente herbívora (Pritchard y Mortimer, 1999).

1.1.2. Hábitat.

A pesar de que en la tierra son lentas, las tortugas marinas son muy buenas nadadoras y pueden alcanzar velocidades cercanas a 35 km por hora. Las hembras de todas las especies regresan a tierra, a intervalos regulares durante la época de reproducción y a anidar en las playas arenosas para enterrar sus huevos.

Sus límites geográficos quedan dentro de las isotermas de 20°C y sus cambios de distribución (migraciones) respetan esos linderos durante las diferentes estaciones del año. Es típicamente nerítica y solitaria; habita en las aguas de la plataforma continental, formando agregaciones para alimentarse en aguas someras (Márquez, 1996).

1.1.3. Alimentación.

Una vez saliendo de su fase pelágica en la que son omnívoras, las tortugas verdes en su fase juvenil inician su cambio hacia una dieta herbívora a base de algas y zacates marinos (Márquez, 1996).

En términos generales, los adultos de la tortuga verde se alimentan durante el día en aguas someras. Los principales componentes de su dieta son, en primer término, zacates marinos, y en segundo, algas, aunque de forma incidental también comen pequeñas cantidades de alimento de origen animal (2%) tales como crustáceos, moluscos, esponjas, briozoarios, erizos y tunicados.

1.1.4. Ciclo de vida.

Las tortugas marinas no son los únicos organismos que se caracterizan por tener largos tiempos de generación y maduración tardía, pero sus ciclos de vida sí son notablemente complejos, y cada una de las fases de crecimiento tienen características

distintivas muy peculiares (Frazier, 2001) (Figura 1). Durante sus migraciones recorren cientos y a veces miles de kilómetros al trasladarse entre sus sitios de alimentación y anidación. Pasan la mayor parte de su vida en el mar, y durante la temporada de reproducción, las hembras regresan a las playas a desovar. Los ciclos de anidación son múltiples, debido a que casi nunca desova al primer intento, y en varias ocasiones recorre trechos de más de cien kilómetros antes de hacer el nido definitivo, siempre buscando espacios libres de vegetación.

Las crías como resultado de la incubación, aparecen en la superficie del nido a partir de los 45 días de haber sido depositado los huevos por las hembras. Una vez que las crías se alejan de la playa donde nacieron y, mientras alcanzan tallas adecuadas, se mantienen a las corrientes oceánicas o entrando en giros. Después de cierto período, generalmente más de un año, las pequeñas tortugas abandonan estos refugios e inician travesías de retorno hacia las costas de donde originalmente proceden. Desde que son crías, y hasta la madurez, pasa un tiempo aproximado entre 15 y 30 años.

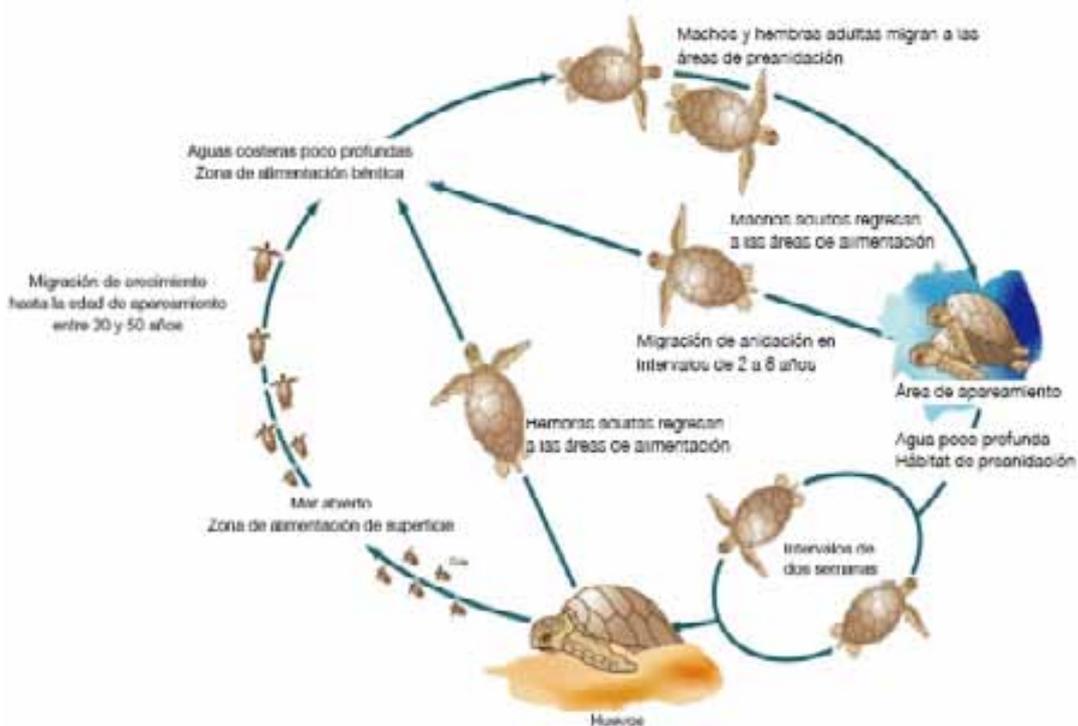


Fig. 1. Ciclo de vida generalizado para las tortugas marinas, basado en Miller (1997) y Chacón (2002).

1.1.5. Comportamiento reproductivo.

Todas las tortugas marinas son especies anidadoras, en las que en determinada temporada del año, las hembras regresan a las playas en donde nacieron, hacen los nidos y depositan sus huevos. Esta conducta que puede ser individual o colectiva dependiendo de la especie.

El comportamiento reproductivo de la tortuga verde es complejo, ya que cada hembra posterior a su anidación requiere migrar a su sitio de alimentación y acumular suficientes reservas energéticas para volver a desarrollar los folículos para su reproducción en una temporada futura. En parte porque estas tortugas son herbívoras y porque los niveles energéticos requeridos para este proceso son altos: cada hembra reproductora tarda generalmente más de un año (en promedio 3 años; Troëng *et al.*, 2007) en regresar a anidar. A esto se le llama la “remigración” a su playa de anidación. Lo que implica este proceso, es que de las tortugas que anidan en un año en particular, la mayoría no serán las mismas que anidan el año subsecuente. Por otro lado, las anidaciones de la especie en la mayoría de las playas del Caribe occidental fluctúan entre años, con abundancias altas en los años pares, y bajas en años nones. No se sabe la razón para estas fluctuaciones.

Este ciclo de remigración es de carácter específico y en el caso particular de la tortuga verde, así como también la prieta y la carey, puede tener una periodicidad de dos, tres, cuatro, cinco años y en algunos casos poco frecuentes de más de cinco años; aunque los períodos más comunes son los de 2 y 3 años. Esta secuencia cíclica no es definitiva, ya que en ocasiones se retrasa por un año o se suspende por períodos más largos, debido a escasez de alimento, cambios ambientales extraordinarios, enfermedades, etc. (Márquez, 1996).

En el caso de *C. mydas*, la temporada de anidación en el golfo de México y mar Caribe, ocurre entre los meses de mayo a octubre, siendo el período de mayor abundancia entre junio y septiembre. El ciclo reproductivo individual se repite generalmente cada dos o tres años. El arribo de las tortugas a las playas de anidación ocurre durante la noche y pueden anidar de una a tres veces en la misma temporada con intervalos de 12 a 14 días. Cada nidada contiene alrededor de 114 huevos, cuya incubación se efectúa en un lapso de 45 a 60 días.

1.1.6. Anidación.

Comúnmente se efectúa durante el verano, en playas arenosas, dentro de zonas tropicales y subtropicales que se encuentran aproximadamente entre los 40°N y 30°S, siempre con temperaturas por encima de los 24°C en el agua superficial del mar.

Las tortugas marinas regresan a anidar a la misma playa donde nacieron, conducta conocida como “filopatría”, lo que ayuda a comprender la estabilidad y permanencia de las colonias, las poblaciones, y aun las especies. No obstante, también ocurre de manera muy poco frecuente la “traslocación” temporal o permanente del sitio de anidación para tortugas individuales, pudiendo dar origen a fallos filopátricos, esto es que las hembras colonicen nuevos sitios en busca de playas de anidación, permitiendo a la especie una protección para su supervivencia y, al hacerlo, poder sobrevivir en caso de que hábitats antiguos sean destruidos o alterados.

Una vez que alcanzan la madurez y llegan a la edad de primera reproducción estimada entre 17 y 23 años (Carr *et al.*, 1978; FitzSimmons *et al.*, 1995; Chaloupka *et al.*, 2004), los adultos realizan grandes migraciones desde los sitios de alimentación a las zonas de anidación. Un ejemplo de ello es el extenso recorrido de más de 2100 km que efectúa la tortuga verde para alimentarse y reproducirse desde la isla Ascensión, a la mitad del Océano Atlántico, donde anida, hasta las costas de Brasil, donde encuentra su alimento, y que para regresar a la isla tiene que nadar en contra de la Corriente Ecuatorial sudatlántica. Casi nunca desova al primer intento, y en múltiples ocasiones recorre trechos de más de cien metros antes de hacer el nido definitivo, siempre buscando espacios libres de vegetación (Márquez, 1996).

1.2. Distribución.

1.2.1. Mundial.

Esta especie tiene amplia distribución tropical y subtropical en aguas costeras continentales e insulares, siendo rara en aguas templadas. Se sabe que algunas poblaciones efectúan grandes migraciones desde los campos de alimentación hasta las zonas de postura, a veces varios miles de kilómetros de distancia. Casi todas las migraciones las efectúan costearo, pero algunas poblaciones cruzan el océano hacia las zonas de alimentación. Un ejemplo de ello es la población que vive en la isla de la

Ascensión, en el Atlántico central, la que según informes del Doctor Archie Carr, realiza una verdadera migración transoceánica (2,200 km) hasta llegar al norte de Brasil (Márquez, 1996).

A nivel mundial, según datos de Seminoff *et al.* (2004), se conoce que la principal colonia reproductiva de *C. mydas* está localizada en la Isla de Raine, en Australia (~80,000 hembras/año), en tanto que en la región del Caribe, la zona de mayor anidación es Playa de Tortuguero, en Costa Rica (~24,000 hembras/año). En México también ocurren anidaciones importantes, observándose dentro de la Península de Yucatán un promedio de 1547 hembras/año en México. En el Atlántico Sur, destacan Isla Trindade, en Brasil, e Isla Ascensión con 3000 y 4000 hembras/año, respectivamente.

1.2.2. En México.

La anidación en México se distribuye desde Tamaulipas hasta Quintana Roo, con algunas áreas de mayor abundancia en la Península de Yucatán: Isla Aguada, río Lagartos, Cozumel, etc., siendo el período de mayor abundancia entre junio y septiembre (Márquez, 1996).

1.3. Genética de la conservación.

El uso de las tortugas marinas como alimento, ha sido históricamente un hábito tradicional de muchos pueblos ribereños, y esta situación se repite alrededor de las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Márquez, 1996).

Esta especie en particular es muy apreciada por su carne, sus huevos, y el calípeo que es un material cartilaginoso –encontrado dentro del plastrón- usado en la sopa. Estos sirvieron de sustento para las tripulaciones de las embarcaciones utilizadas durante los periodos de exploración, expansión y colonización del Nuevo Mundo (Carr, 1954; Parsons, 1962).

Como consecuencia de la sobrepesca, grandes poblaciones de tortuga verde han sido destruidas. Uno de los casos es el ocurrido en Bermudas, donde en algún tiempo existió un conjunto de estos organismos anidando y alimentándose (Ingle y Smith, 1949; Parsons, 1962), sin embargo, fue tal su explotación, que a finales del siglo XVIII la población se redujo al grado que la captura comercial dejó de ser rentable (Garman,

1884b en Carr, 1952; Parsons, 1962), y la población anidadora fue destruida (Lagueux, 2001).

Por otra parte, a finales del siglo XVII, una enorme colonia de tortuga verde en la Isla Gran Cayman, se vió mermada debido a su sobreexplotación, y muchas otras colonias a lo largo del mundo tuvieron el mismo destino (Parsons, 1962; King, 1982).

Entre las amenazas a la sobrevivencia de las tortugas marinas alrededor del mundo, se encuentran las actividades humanas que debido al desarrollo incontrolable, han provocado la pérdida y degradación del hábitat, ocasionando directamente la destrucción de playas de anidación. Además de la captura ilegal y colecta de huevos, otras de las causas que han derivado directamente en la merma de las poblaciones de tortugas a nivel mundial, están los cambios climáticos inducidos por el calentamiento global, la contaminación marina, e incluso depredadores naturales como amenaza a los huevos y crías (WWF, 2008).

A nivel global, por ser consideradas las tortugas marinas como especies en peligro de extinción, se encuentran incluidas en el Apéndice I de la Convención Internacional para el Comercio de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestre (CITES), por lo que su manejo, recuperación y posible aprovechamiento está sujeto a programas de manejo que involucran tanto reglamentos nacionales como internacionales.

México no está excluido de esta problemática, por lo que el gobierno la considera en peligro de extinción de acuerdo a la norma NOM-059-ECOL-2001.

Con el propósito de estudiar los problemas complejos que rodean la destrucción del hábitat y la protección de la especie, fue que se desarrolló la *Biología de la Conservación*. Los objetivos de los biólogos de la conservación son entender cómo los humanos afectan la biodiversidad, y de esta manera proporcionar soluciones potenciales. Para esto, la Biología de la Conservación requiere, para su óptimo funcionamiento, de muchas disciplinas, entre las que se encuentra la Genética.

Dentro de las contribuciones que ejerce el enfoque molecular de la genética a este nuevo campo está la caracterización a nivel genética de las poblaciones, para evaluar los niveles de variabilidad que contienen, tanto dentro de las poblaciones como entre ellas. El conocimiento de los niveles de variabilidad genética son importantes ya que se considera que reducciones en este parámetro reduce la capacidad para adaptación de los organismos y se incrementa el riesgo de extinción (Frankham, 1995).

Como otras especies de amplia distribución, las tortugas marinas están conformadas por varias subunidades demográficas que pueden identificarse a través de distintas técnicas. Se han empleado muchas de éstas, pero una de las más exitosas aprovechan métodos genéticos que permiten identificar las poblaciones mendelianas también llamadas “Unidades de Manejo” (UM; Moritz *et al.*, 2002), término acuñado para definir aquellas poblaciones que muestran entre sí una divergencia significativa en la frecuencia de sus alelos, importante para estudios de conservación ya que representan poblaciones relacionadas pero con niveles bajos de flujo génico entre ellas, lo cual las convierte en funcionalmente independientes. Estas pueden ser monitoreadas con los “marcadores moleculares” que las identifican, aportando un conocimiento del grado de endogamia, estructuración genética y dinámica metapoblacional. El aislamiento entre las UM se deriva de una presencia de bajos niveles de flujo génico o migración entre las unidades reproductoras. Una consecuencia de este tipo de aislamiento es que las poblaciones exhibirán una dinámica poblacional independiente correlacionada con el grado de diferenciación genética, por lo tanto, dichas poblaciones responderán de manera independiente a las acciones de manejo, mismas que deben ajustarse al estado de conservación de cada una de las poblaciones (Moritz, 1994).

Una de las técnicas moleculares más empleadas para determinar la estructura poblacional de las tortugas marinas, es el uso de la región control (RC) del ADN mitocondrial (ADNmit) y cuyo tamaño oscila alrededor de los 1100 pb. Dentro de esta región se encuentra el sitio de iniciación de replicación, también conocida como “D-loop” término con el que frecuentemente (y erróneamente) se denomina la RC. Este segmento del ADNmit se caracteriza por ser no codificadora y matrilineal, esto significa que todas las crías independientemente del sexo lo heredan directamente de la madre sin ninguna contribución del padre. A pesar de que el poder de resolución de este marcador se encuentra condicionado a la metodología empleada, evoluciona más rápido que el resto del genoma. En muchas circunstancias, los marcadores heredados por las hembras nos proporcionan las perspectivas sobre sus conductas reproductoras que son de gran importancia para la supervivencia de la especie (Bowen y Avise, 1995), por este motivo, se le reconoce a la región control como el segmento de ADNmit idóneo para los estudios en playas de anidación. Gracias a estos estudios es como hemos podido conocer que las tortugas retornan a su región de origen para reproducirse, aunque los sitios de reproducción de una población pueden abarcar varias playas de anidación, distanciadas entre sí hasta 100-400 km (Norman, 1996; Bowen y Avise, 1995).

11. ANTECEDENTES.

El estudio de las tortugas marinas se ha visto complicado por numerosos aspectos, pero particularmente por lo prolongado de su ciclo de vida y los extensos desplazamientos ya sea por la dispersión impulsada por las corrientes oceánicas en sus etapas juveniles como las extensas migraciones entre hábitats de reproducción y alimentación de los adultos. Por otra parte, las relaciones evolutivas entre sus poblaciones fueron objeto de polémica debido a que los organismos presentan rasgos morfológicos extremadamente conservados y no se prestaban fácilmente a un análisis filogenético con las herramientas antiguas. En los últimos años, los marcadores moleculares han sido utilizados para aclarar aspectos de la vida tanto juvenil como adulta de organismos marinos migratorios que incluyen a los salmones, ballenas y, por supuesto, tortugas marinas (Utter y Ryman, 1993; Baker *et al.*, 1994; Norman *et al.*, 1994 en Lahanas *et al.*, 1998).

El empleo de la genética molecular para el estudio de las tortugas marinas, ha permitido esclarecer diversos aspectos sobre su historia evolutiva, filogeografía, conducta migratoria, estructura poblacional y sistemas de apareamiento (Bowen y Karl, 1997), y particularmente los estudios poblacionales de la herencia maternal del ADNmit ha permitido el desarrollo de marcadores genéticos para *C. mydas*, aportando valiosos datos acerca de cómo están estructuradas sus poblaciones, cual es su comportamiento reproductivo y, por ende, de su conservación (Bowen *et al.*, 1992; Allard *et al.*, 1994; Lahanas *et al.*, 1994; Encalada *et al.*, 1996, en Lahanas *et al.*, 1997). Otro punto que ha sido aclarado es la tendencia de las hembras hacia la filopatría, además de ser la secuenciación del ADNmit una de las herramientas más útiles para abordar y extender hipótesis sobre la ecología de las tortugas marinas (Norman *et al.*, 1994; Bowen y Karl, 1997; Bowen 2003).

2.1. Estructura genética de las poblaciones.

En 1992, Bowen *et al.*, a través del uso de RFLP, realizan un estudio global sobre tortuga verde, que incluye un total de 226 ejemplares, representando 15 principales colonias en los océanos Atlántico, Índico, Pacífico, y mar Mediterráneo, para esclarecer aspectos evolutivos y de su historia natural. El análisis genealógico de los 14 genotipos encontrados, señaló la presencia de dos grandes grupos en que se divide la especie en las cuatro regiones estudiadas: (1) las poblaciones del océano Atlántico y mar

Mediterráneo; (2) las de los océanos Índico y Pacífico. Los individuos de estos dos grupos fueron separados por 5 ó más cambios por sitios de restricción. El nivel de flujo génico (Nm) entre los diferentes pares de colonias, fue muy bajo (< 1), lo cual indica un pequeño intercambio genético entre las colonias. En general, los resultados indicaron una bifurcación histórica de las poblaciones de *C. mydas* entre: (1) los océanos Índico y Pacífico y (2) el Atlántico y el Mediterráneo. Ellos infieren que este patrón encontrado es consistente con los límites geográficos y climáticos que definen las distribuciones de la tortuga verde. Sugieren que las poblaciones de estas dos regiones probablemente fueron aisladas debido a las bajas temperaturas registradas en el sureste de África y especialmente en América del Sur, ya que actualmente no hay barreras físicas que impidan el movimiento dentro del Atlántico y Mediterráneo, o entre las cuencas del Pacífico e Índico. Además, interpretan la poca separación entre la filogenia del ADNmit de las cuencas del Atlántico y Mediterráneo, como un indicativo de que las hembras anidadoras han permitido una conexión en un tiempo evolutivo reciente, probablemente debido a procesos de extinción de las colonias y posterior colonización.

Encalada *et al.* (1996) analizaron la variación de las secuencias del ADNmit para examinar la filogeografía y estructura genética de las poblaciones de tortuga verde del Atlántico y Mediterráneo. Encontraron un total de 18 haplotipos definidos por 19 sitios polimórficos en 147 individuos distribuidos en 9 playas de anidación. El valor más alto de diversidad haplotípica (h) se encontró en la colonia de México (0.82), misma en la que, junto con la colonia de Aves, obtuvieron los valores más altos de diversidad nucleotídica (π), ambas colonias con pequeños tamaños poblacionales (hembras/año). Esta relación inversa entre tamaño poblacional y diversidad genética, ya había sido reportada por Lahanas *et al.* (1994) en su estudio de las poblaciones de *C. mydas* del Gran Caribe (Florida, Aves, Surinam y Costa Rica), observando que colonias grandes como Costa Rica manifiestan bajos niveles de diversidad genética, sugiriendo que puede ser ocasionado por eventos históricos de cuello de botella o eventos fundador. En el estudio de Encalada *et al.* (1996), las pruebas de diferenciación interpoblacional arrojaron que las colonias de México y Florida, Aves y Surinam, e Isla Ascensión y Guinea Bissau no mostraron diferencias significativas, observando que las colonias que componen cada par son geográficamente cercanas una de la otra. Los autores sugieren que esto puede deberse a un continuo intercambio genético entre los pares de poblaciones o resultado de un aislamiento reciente. Los resultados de las relaciones filogeográficas entre las colonias, coincidieron con lo registrado por Bowen *et al.*

(1992), encontrando la presencia de dos linajes a lo largo de la cuenca Atlántica: (1) correspondiente al oeste del Caribe y el Mediterráneo y representado por 10 haplotipos predominando el haplotipo III, y (2) que incluye el este del Caribe, Atlántico Sur y las colonias del oeste de África, representado por 8 haplotipos mayormente caracterizados por el haplotipo VIII.

Basados en un reloj molecular provisional de RFLP de 0.2-0.4% de divergencia por millones/años para los Testudines (Awise *et al.*, 1992; Bowen *et al.*, 1993), los autores calcularon una tasa evolutiva de aproximadamente 0.012-0.024 sustituciones/sitio/millones de año para la región control del ADNmit. Con base en esto estimaron la divergencia entre los dos linajes de *C. mydas* del Atlántico (0.3-0.7 Mda) y la divergencia del grupo externo del Pacífico (1.8-3.7 Mda). Sugieren que la genealogía generada en su estudio puede ser explicada por dos posibles modelos para la distribución de los linajes en el Atlántico. Uno explica la evaluación de los grupos, cada uno dentro de hábitats independientes (escenario vicariante), y el otro hace énfasis en la habilidad de los organismos para traspasar los límites de su distribución histórica (escenario de dispersión). No obstante, el primer modelo fue refutado para el origen de Isla Ascensión, indicando que se debe a un reciente evento de colonización (Bowen *et al.*, 1989), aludiendo a la historia climática y geológica del Pleistoceno, para determinar qué factores pudieran haber influido para encontrar este patrón en las tortugas verdes del Atlántico.

En ambos trabajos (Bowen *et al.*, 1992; Encalada *et al.*, 1996) se sugiere que las poblaciones de tortuga verde de los océanos Atlántico y Pacífico, fueron aisladas durante el Pleistoceno (hace aprox. 2.0 Mda). Durante el tiempo de las máximas glaciaciones, el aumento de la capa de hielo provocó una disminución en el nivel del mar (aprox. 100 m por debajo de los niveles de la superficie actual; Bowen, 1978), lo que pudo haber reducido el hábitat de anidación y alimentación disponible para *C. mydas*. De acuerdo a los registros climáticos ocurridos durante la glaciación Wisconsin (hace aprox. 18,000 años), las capas de hielo se extendieron al menos 10 grados más cerca al ecuador de lo que están hoy en día (Gates, 1993), bajo estas condiciones de disminución de temperatura y elevada aridez, los hábitats para anidación de tortuga verde no fueron aptos en sitios de latitudes altas (por ejemplo, Florida, Yucatán y Chipre). Esto ocasionaría que las regiones ecuatoriales sirvieran como refugio durante las máximas glaciaciones, con subsecuentes re-colonizaciones hacia las altas latitudes durante los periodos interglaciales.

Debido a que en la playa de Tortuguero, en Costa Rica, está localizada la colonia de anidación de *C. mydas* más grande en el Atlántico, se ha despertado el interés de muchos investigadores. Estudios basados en el análisis del ADNmit, han señalado bajos niveles de diversidad genética y flujo génico entre ésta y otras poblaciones anidadoras en el Caribe. En el 2005, Bjorndal *et al.* utilizaron esta misma herramienta molecular para evaluar dichas características, pero aumentando grandemente el tamaño de muestra (n=433) para sobreponerse a limitantes anteriores que podrían haber enmascarado variabilidad adicional. Calcularon y compararon la diversidad haplotípica y nucleotídica y los niveles de flujo génico entre la colonia del Tortuguero y otras colonias más pequeñas del Caribe. Los resultados revelaron dos nuevos haplotipos en las hembras anidadoras, incrementándose el número de 3 a 5, con valores de diversidad haplotípica y nucleotídica, bajos, que representan el 37 y 43%, respectivamente, de la diversidad total reportada en las playas de anidación del Gran Caribe. La reconstrucción del árbol de genes coincidió con la reportada por Encalada *et al.* (1996), identificando dos linajes para las colonias de tortuga verde a lo largo del Atlántico, observando que dos de los nuevos haplotipos que encontraron (CM-A20 y CM-A21) y que sólo habían sido reportados en un sitio de alimentación en Bahamas (Lahanas *et al.*, 1994) pertenecen al linaje del Atlántico Sur. Con el incremento del tamaño de muestra, encuentran bajos niveles de estructura (Φ_{ST}) entre las colonias del Gran Caribe, bajos valores de F_{ST} entre pares de poblaciones, y altos niveles de flujo génico con las colonias de Aves y Surinam, pero todas estas diferencias fueron mínimas. En general, al aumentar el tamaño de muestra no se observó una mayor estructura entre la colonia de Costa Rica y las del Gran Caribe, ya que dicha población es mayormente constituida por el haplotipo CM-A3 que, junto con el haplotipo CM-A1, es de los más distribuidos y representados en la región. Se concluyó que para conservar la diversidad genética de esta especie en el Caribe, es necesario un cuidadoso manejo no sólo de las colonias grandes como la del Tortuguero, sino de aquellas pequeñas adyacentes a ella.

Formia *et al.* (2006), a través de la secuenciación de un segmento de 488pb de la región control del ADNmit, analizaron la estructura genética de seis playas de anidación de *C. mydas* en la cuenca del Atlántico y una del Índico de África. En un total de 188 muestras, 47 sitios variables definieron 14 haplotipos, 10 de los cuales eran desconocidos. La construcción de una red de haplotipos a través del diagrama TCS, mostró al CMA8 como un haplotipo central del cual se deriva el resto de los encontrados. Las diferencias entre los haplotipos encontrados en las poblaciones del

Atlántico, van de 1 a 4 sustituciones; en cambio que el haplotipo más cercano a este grupo y encontrado en las colonias del Océano Índico, es diferenciado por 31 sustituciones. Esta misma diferencia entre las poblaciones de ambas cuencas, fue observada en los resultados de diversidad genética y del Análisis de Varianza, encontrando una mayor estructura entre los océanos y mucho menor entre las poblaciones dentro del Atlántico. Los modelos de distribución Mismatch en las poblaciones analizadas fueron principalmente unimodales, lo cual indica una expansión reciente de las poblaciones, seguida de un cuello de botella o evento fundador. Los autores argumentan que la composición y estructura encontrada en las colonias de África, puede obedecer a escenarios evolutivos en varias escalas de tiempo entre los que pudiesen incluirse los eventos geológicos, fluctuaciones en el nivel del mar, y más recientemente la explotación de las poblaciones.

Bourjea *et al.* (2006), utilizaron un segmento de 396 pb de la región control del ADNmit para conocer la estructura genética de las poblaciones de tortuga verde en 10 playas de anidación localizadas en el Suroeste del Océano Índico a lo largo del Canal de Mozambique. En un estudio previo realizado por Bowen *et al.* (1992), se concluyó que no hay evidencia de flujo génico entre los océanos Índico y Atlántico en los últimos 1.5 millones de años, pero no tomaron en cuenta los sitios de anidación de dicho canal. Por esto, el principal objetivo de Bourjea y colaboradores, era investigar si había una relación entre las tortugas verdes del Índico y las del Atlántico y, de haberla, el Canal de Mozambique era por donde pudiese ocurrir esa conexión. En un total de 288 organismos analizados, encontraron 7 haplotipos, 6 de ellos previamente reportados. Se demostró que sí había este flujo y que la dirección sería desde el Océano Atlántico hacia el Océano Índico, y no viceversa. Aunque ya existía un estudio previo con microsatélites efectuado por Roberts *et al.* (2004) que evidenció un flujo génico mediado por machos entre los dos océanos, esta fue la primera vez que se observó flujo génico vía línea materna. Los resultados se explican con base en las condiciones oceanográficas especialmente en la parte sureste del Canal de Mozambique en donde se observan incrementos en la temperatura superficial (Piton *et al.*, 1981), formación de meandros (Lutjeharms *et al.*, 1981; Donguy y Piton, 1991), y el hecho de que se trata de un área donde convergen varias corrientes (Piton y Magnier, 1976; Piton y Laroche, 1993); en tanto que en la parte suroeste se generan los llamados “eddies” (De Ruijter *et al.*, 2002), que son pequeños giros ciclónicos formados por la ruptura de un lazo origen de una corriente oceanográfica. Se sugiere que los patrones de diversidad genética

encontrados a lo largo del Canal de Mozambique puede deberse a una reciente colonización del Océano Atlántico, manteniéndose un flujo provocado por las corrientes que juegan un papel muy importante en la dispersión de las crías y juveniles durante sus primeros años de vida.

En los últimos años, se han agudizado los estudios sobre la especie siendo cada vez más detallados y complejos, estudiando no sólo la diversidad genética de ella, sino cómo ésta se distribuye temporal y geográficamente, buscando tener un mayor entendimiento sobre la historia evolutiva de la especie y los patrones que han sido determinantes en ella.

Uno de ellos es el realizado por Formia *et al.* (2007), el más significativo que se ha efectuado en Isla Ascensión, usando un segmento de la región control para ver la distribución de la diversidad genética, a través del análisis de 245 muestras colectadas en 10 playas de anidación situadas en toda la isla, incluidas 50 muestras que habían procesado en el 2006. Encontraron un total de 13 haplotipos, un número elevado comparados con los que hasta la fecha se conocían. La mayoría de ellos ya habían sido reportados anteriormente para Isla Ascensión, a excepción de cinco cuyo origen se desconocía. Para tener un estudio más completo, compararon sus resultados con los que habían obtenido Encalada *et al.* en 1996 con una $n=20$. La prueba de diferenciación utilizando el estadístico F_{ST} demostró que había diferencias significativas entre la muestra de Encalada y la ellos (ambas temporadas), en tanto que no se observaron diferencias ($P<0.001$) entre las muestras tomadas en el 2006 ($n=50$) y las del 2007 ($n=195$). Realizaron comparaciones de distancias genéticas entre todas las colonias del Atlántico tomando los datos de Encalada *et al.* (1996), dando como resultado que Ascensión no era significativamente diferente a Isla Bioko y Sao Tome, ambas colonias de África, en cambio, comparando esos mismos datos con los resultados obtenidos por Formia *et al.* (2006, 2007), resulta altamente significativo el nivel de diferenciación. Para estimar las relaciones evolutivas entre los haplotipos que encontraron y todos los reportados para *C. mydas* en el Atlántico se realizó un análisis TCS que mostraba, entre cada haplotipo, el lugar y número de sitios en que se diferenciaban. Este análisis reveló que todos se distinguen del CM-A8 (el haplotipo más común de Isla Ascensión, con una frecuencia del 83%) por una sustitución, a excepción del CM-A39 que se diferencia por dos. Los autores realizaron un análisis de rarefacción con el propósito de ver el tamaño de muestra necesario para observar la totalidad de los haplotipos presentes en la población. Este estudio calculó que pueden encontrarse un máximo de 18 haplotipos.

Realizando una extrapolación, el 72% (13 haplotipos) de la diversidad total puede ser explicada con el tamaño de muestra que se tiene (224), y para obtener un 94% (17 haplotipos) del total estimado se requerirían 1,384 muestras. Hicieron un análisis comparativo con los datos de la colonia de Tortuguero, en Costa Rica, cuyo tamaño de muestra es igualmente grande. En el caso de Tortuguero, se calculó que probablemente exista un máximo de 6 haplotipos. Con el tamaño de muestra actual (433) se han observado 5 haplotipos que describen el 83% de la variación total y para encontrar los 6 haplotipos se requerirían 729 muestras. Finalmente, recomiendan esa técnica para evaluar el tamaño adecuado de la muestra que describa la diversidad completa de las colonias analizadas. En estudios anteriores (Encalada *et al.*, 1996; Formia *et al.*, 2006) los análisis de diferenciación no mostraban diferencias significativas entre la colonia de Isla Ascensión y otras del Atlántico Sur como Guinea Bissau considerándolas, en conjunto y por manifestar divergencias genéticas fuertes con respecto a otras colonias pero no entre sí, como una sola población o UM. Sin embargo, con el aumento del tamaño de muestra y la subsecuente presencia de 5 haplotipos endémicos, se observaron diferencias estadísticas entre la isla y las otras colonias regionales, por lo que la tomaron como una sola población. Con ese mismo incremento en el número de haplotipos en este nuevo estudio (13 haplotipos en 245 muestras), aumentaron los niveles de diversidad haplotípica, siendo más altos que los observados en Tortuguero, Costa Rica (5 haplotipos en 433 muestras; Bjorndal *et al.*, 2005), observándose inclusive que algunas de las playas analizadas mostraban valores similares aun cuando el tamaño de muestra era considerablemente distinto. No obstante, los valores de diversidad nucleotídica fueron bajos, aun menores que los reportados en Tortuguero; esto debido a que el total de haplotipos son evolutivamente cercanos, mostrando de 1 a 2 sustituciones de diferencia entre sí, en cambio, en Costa Rica, a pesar de haber sido sólo 5 haplotipos los encontrados, pertenecían a linajes evolutivos distintos, por lo que las diferencias nucleotídicas eran mayores. Los autores concluyen que el aumento del tamaño de muestra de Isla Ascensión da una mayor resolución y poder estadístico para describir la estructura genética entre todas las colonias estudiadas del Atlántico.

Bjorndal *et al.* (2006) analizaron la región control del ADNmit para determinar la estructura genética de tres poblaciones anidadoras a lo largo de las costas de Brasil, además de dos sitios de alimentación situados en dos de esas localidades. Entre los objetivos de este estudio, estaban el conocer más de las secuencias de ADNmit para *C. mydas* en el Atlántico, evaluar el grado de diferenciación genética a lo largo de las

colonias de anidación de Brasil, y estimar las contribuciones de éstas a los sitios de alimentación examinados usando dos métodos recién desarrollados de análisis de stocks mezclados. De los 200 organismos analizados, encontraron 13 haplotipos, uno de ellos no había sido reportado anteriormente. La estructura genética entre los tres sitios de anidación fue significativa, aunque relativamente baja, en tanto que no se mostraron diferencias en las frecuencias haplotípicas de las dos colonias más pequeñas, Atol das Rocas y Fernando de Noroña, separadas entre sí por 155 km, mientras que las diferencias sí fueron significativas entre estas dos poblaciones y la de Trindade, el sitio más grande y más distante, ubicado a 1,850 km, concluyendo que la diferenciación entre colonias ocurre en ámbitos mayores a 155 km de distancia.

Dethmers *et al.* (2006) realizaron otro de los trabajos más minuciosos y de amplia cobertura geográfica que se tienen de *C. mydas*. Su extensa área de estudio abarcó 714 individuos a lo largo de 27 colonias de anidación en la región de Australasia. Ellos combinaron técnicas moleculares con datos de marca/recaptura de tortugas marcadas con placas metálicas para tener un panorama completo de las poblaciones y ofrecer bases científicas al manejo de la especie tanto a niveles nacionales como entre países. En su análisis, amplificaron un segmento de 384 pb de la región control, identificando un total de 25 haplotipos. Para el proceso de diferenciación entre las poblaciones e identificación de las Unidades de Manejo, aplicaron la corrección de Bonferroni secuencial a los valores de Probabilidad de la Prueba Exacta, encontrando 17 unidades demográficas discretas, algunas constituidas por varias poblaciones, separadas entre sí por más de 500 km. Los análisis subsecuentes los realizaron considerando las poblaciones agrupadas en UM. Para Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) utilizaron tanto el método con distancias genéticas como con frecuencias haplotípicas, encontrando una fuerte estructura entre sus UM, y concluyeron que la distribución de la variación era más fuerte usando el primer método, sugiriendo que se trataba de poblaciones que pertenecen a distintos linajes. Evaluaron un modelo de aislamiento por distancia a través de la correlación entre distancia geográfica y distancia genética en la Prueba de Mantel. Los resultados tanto para esta prueba como para la de la autocorrelación espacial, revelaron que hay una correlación significativa entre las distancias genéticas y geográficas dentro de un ámbito de hasta 2000 km. Para corroborar si habían logrado agrupar correctamente las poblaciones geográficamente separadas en UM de acuerdo a un esquema de independencia reproductiva, los autores reunieron datos de programas de marca-recaptura para hembras anidadoras. Encontraron

que, efectivamente, había evidencia de migraciones dentro de las UM que coincidían con las agrupaciones a partir del análisis genético.

2.2. Análisis de Stocks Mezclados. Contribución de las colonias a sitios de agregación marina.

Existen grandes vacíos en nuestro conocimiento acerca de los hábitos migratorios de las tortugas marinas en su etapa juvenil. Los Análisis de Stocks Mezclados (MSA) sobre la base de los análisis genéticos, han permitido a los investigadores examinar las relaciones que existen entre los sitios de origen o “fuentes”, es decir, colonias de anidación y las agregaciones de tortugas en sus hábitats de alimentación y desarrollo (Broderick *et al.*, 1994; Bowen *et al.*, 1995; FitzSimmons *et al.*, 1997; Bolten *et al.*, 1998; Lahanas *et al.*, 1998; Laurent *et al.*, 1998; Bass y Witzell 2000; Engstrom *et al.*, 2002; Luke *et al.*, 2004). Más recientemente, los estadísticos Bayesianos han ido reemplazando y complementando métodos anteriores en los MSA basados primordialmente en la máxima verosimilitud (Pella y Masuda, 2001).

Lahanas *et al.* (1997) analizaron un segmento de la región control del ADNmit para determinar la composición genética de una población de tortugas verdes en un sitio de alimentación de Great Inagua, Bahamas. Usando resultados genéticos de un estudio previo de nueve poblaciones anidadoras del Atlántico y Mediterráneo (Allard *et al.* 1994; Lahanas *et al.* 1994; Encalada *et al.* 1996), ellos evaluaron la contribución de estas poblaciones al sitio de alimentación. Las evidencias de los marcadores genéticos, frecuencias haplotípicas y los análisis de máxima verosimilitud (ML por sus siglas en inglés), coincidieron en que múltiples colonias contribuyen a la población del sitio de alimentación. Concluyen que dos factores son los que pudiesen determinar la composición de los sitios de alimentación: (1) el tamaño de las colonias; (2) la proximidad entre las playas y los sitios analizados. Esto, considerando que las tortugas jóvenes buscan alimentarse en sitios cercanos a las playas donde nacieron. Encontraron que el tamaño de la población contribuye significativamente ($t=6.77$; $P=0.02$), mientras que la distancia no ($t=-0.26$; $P=0.82$). De esta manera se concluyó que es el tamaño de las colonias el factor más importante en la composición de este sitio de alimentación y en particular para colonias relativamente cercanas a él ($< 3,500$ km). Con esto se explicó, en este caso, por qué Costa Rica tuvo la mayor contribución, puesto que esa población es de las más grandes en el Atlántico.

Bass *et al.*, (2000) estudiaron una población de *C. mydas* en un sitio de alimentación ubicado enfrente de la Isla Hutchinson en Florida para establecer el origen de estos organismos. Los resultados indicaron que a esta agregación contribuyen poblaciones anidadoras de Costa Rica (53%), Estados Unidos y México (42%), e Islas Aves (Venezuela) y Surinam (4%). Entre otros métodos estadísticos, emplearon un análisis de regresión para ver qué factor contribuía más en la composición de este sitio: si el tamaño de las playas de anidación, como lo habían afirmado en su trabajo Lahanas *et al.* (1998), o bien, pudiese depender de la distancia entre las playas y los sitios. Los resultados indicaron que es este último factor el que más determina la estructura de los sitios de alimentación.

Luke *et al.* (2004) realizaron un MSA con el fin de dilucidar orígenes de esta especie en agregaciones marinas de Barbados a pesar de que la especie no anida allí. Se plantearon varias hipótesis según resultados de otros estudios; que la composición de stocks en los sitios de alimentación dependía de: (1) la abundancia de las colonias anidadoras, (2) el sistema de corrientes oceanográficas de la región (Lahanas *et al.*, 1998); ó (3) la distancia entre los sitios y las playas (Bass y Witzell, 2000). Encontraron ocho haplotipos, siete de ellos previamente identificados en sitios de anidación ubicados en países del Oeste del Caribe y Centro y Sur del Atlántico, y otro más que no había sido registrado. Debido a que Barbados se encuentra entre un gran giro de la Corriente Nor-ecuatorial, cuando converge con la Sur-ecuatorial, los autores concluyen que la mejor explicación para la composición en este sitio de alimentación se debe al sistema de corrientes, ya que hay una principal contribución de las colonias ubicadas en Aves/Surinam e Isla Ascensión. Para que esto ocurra se menciona que los individuos nacen en esas playas y durante muchos años se encuentran a la deriva dentro de este sistema de giros oceánicos que los dirige hacia Barbados, en etapas iniciales de desarrollo previas a su migración final hacia sus orígenes y la reproducción.

Carreras *et al.* (2006), en un estudio análogo, analizaron la composición de stocks en ocho sitios de alimentación para la especie *Caretta caretta* ubicados en el Mediterráneo y en las aguas adyacentes del Océano Atlántico. Encontraron una fuerte estructura en la región oeste del Mediterráneo, explicada por patrones de circulación oceánica en corrientes superficiales y las masas de agua muy contrastantes causando que los juveniles de esta especie entren de este a oeste del Mediterráneo y desde el Océano Atlántico por la acción de masas de agua, con un flujo limitado de tortugas entre las masas. La mayoría de los 8 sitios estaba constituida por tortugas de colonias

del Atlántico, en tanto que aquellos situados a lo largo de la costa europea (este y oeste de Italia y noreste de España) estaban constituidos principalmente por tortugas de colonias del Mediterráneo.

Bass *et al.* (2006) compilaron y reanalizaron datos previamente publicados para tortugas verdes en las costas orientales de EUA, con el objetivo de esclarecer el comportamiento migratorio particularmente de juveniles a través de estudios de composición en agregaciones en sitios de alimentación con marcadores del ADNmit y análisis Bayesianos. Contrastando con resultados anteriores, individuos de la colonia de anidación en EUA (54%) y de de México (27%) dominaron el sitio de alimentación de Carolina del Norte. Por otro lado, los niveles de diversidad haplotípica fueron altos en los sitios de agregación probablemente como resultado de las acciones del del sistema de corrientes: la corriente de Florida, la del golfo y la de las Antillas, influyen tanto para el Este-central de Florida, así como para Carolina del Norte. La diferenciación en la composición entre agregaciones marinas indica que no se reclutan de manera azarosa sino más bien que la mezcla que puede ocurrir en la etapa previa (la pelágica) puede ser alterada por comportamiento como el movimiento continuo entre localidades de alimentación. Esto podría ser definido por cambios estacionales de temperatura, variaciones temporales en la actividad de anidación, corrientes o comportamiento diferencial entre colonias. Los resultados apoyan una función primordial para las corrientes y la migración pasiva en las etapas tempranas de juveniles hacia las mezclas regionales. Sin embargo, la fuerte diferenciación entre poblaciones de agregación en patrones que refleja la filogeografía de las colonias reproductoras apoya la noción de una fuerte tendencia hacia una atracción hacia el sitio natal (“natal homing”) en los juveniles. Con lo anterior, los autores concluyen que el reclutamiento de juveniles a hábitats neríticos resulta de la interacción entre patrones de corrientes y la identidad filogeográfica de los individuos que definen su comportamiento.

Uno de los estudios recientes con esta especie, es el realizado por Naro-Maciel *et al.* (2007) persiguiendo uno de los objetivo primordiales de la *Biología de la Conservación* de conocer los hábitos migratorios y los patrones de dispersión de especies que se encuentran amenazadas o en peligro de extinción. En el caso de las tortugas marinas se manejan varias hipótesis para explicar los patrones de convergencia en hábitats marinos: (1) proximidad de las colonias al sitio (entre más cercanas, mayor contribución), (2) tamaño de las colonias fuente (entre más grandes, mayor contribución) y (3) derroteros de las corrientes marinas (según las trayectorias

facilitarían preferentemente el acarreo de colonias dentro de los derroteros de las corrientes hacia sitios de convergencia en su paso). Partiendo de estos fundamentos, los autores analizaron la composición genética de poblaciones de *C. mydas* de dos sitios de alimentación ubicados en la costa de Brasil, usando como herramientas moleculares un fragmento de la región control del ADNmit y siete loci de microsatélites, esto para ver las contribuciones de ambos sexos. Los primeros estudios para los sitios de alimentación, sugerían que la composición genética estaba principalmente correlacionada con el tamaño de las colonias reproductoras (Bass *et al.*, 1998; Lahanas *et al.*, 1998). Entre los objetivos de este trabajo, estaban el considerar los efectos de dispersión arriba mencionados para el caso particular de estas dos colonias brasileñas; calcular la diferenciación genética entre las poblaciones de estos dos sitios de alimentación con otras poblaciones del Atlántico; y esclarecer el origen de las tortugas de estas dos localidades [Ubatuba (UB) y Almofala (AF), Brasil]. En UB fueron identificados 10 haplotipos, nueve de los cuales previamente reportados y uno cuya secuencia no había sido publicada. En el caso de AF, de los 13 haplotipos encontrados, el 100% ya había sido nombrado. Con base a los Análisis de Stocks Mezclados, se rechazaron hipótesis de que la distancia geográfica y el tamaño de las poblaciones de anidación fueran factores determinantes, aceptando en su lugar un papel primordial para las corrientes en esta región. En términos de diferenciación genética, ésta fue más pronunciada en el análisis mitocondrial que en el de los microsatélites. Resultados similares en otras investigaciones, se han atribuido al mayor flujo génico detectado en loci nucleares, ya que con estos participan no sólo las hembras, como en el caso del ADNmit, sino también los machos (Karl *et al.*, 1992; FitzSimmons *et al.*, 1997; Roberts *et al.*, 2004).

Bolker *et al.* (2007) tomando como antecedente el hecho de que el tradicional Análisis de Stocks Mezclados estiman una contribución proporcional de cada colonia a un determinado sitio de agregación (llamado por ellos como “many-to-one, foraging-ground-centric”), elaboran un método que simultáneamente estima los orígenes y destinos de los individuos en una metapoblación hacia múltiples poblaciones o sitios de agregación (denominado como “many-to-many”), bajo las vertientes de las proporciones de individuos de cada sitio que contribuyen a las diferentes colonias (“foraging-ground centric”), y las proporciones de individuos de cada colonia que van a alimentarse a cada sitio (“rookery-centric”), en ésta última considerando una categoría de desconocidos (“unknown”) para aquellos sitios que no se contemplan y que registra

la presencia de individuos provenientes de cada colonia. Ellos construyen un modelo Bayesiano mediante modificaciones al análisis implementado por Pella y Masuda (2001) incorporando, para cualquiera de los dos métodos (“Many-to-one” y Many-to-many”) los tamaños de las poblaciones en número hembras/año, datos obtenidos de la literatura (Bellini y Sanches, 1996; Bellini *et al.*, 1996; Broderick *et al.*, 2002; Formia, 2002; Seminoff, 2002). Bolker *et al.* (2007) un segmento de 481 pb de la región control del genoma mitocondrial que contempló datos de individuos de 11 colonias y 7 sitios de alimentación de *C. mydas* a lo largo del Atlántico y previamente estudiados. Los resultados de ambos métodos fueron similares, sin embargo, los nuevos análisis, al reconocer la dependencia entre las contribuciones de distintas colonias a diferentes sitios de agregación, sugieren una disminución en las contribuciones de la colonia de Florida a los sitios de Florida y Bahamas, compensándose con un incremento en las contribuciones de México, dentro del área del Gran Caribe. Algo similar se reportó en el Atlántico Sur, cuando el aporte a Bahía Corisco por parte de NE Brasil disminuye, aumentando las de Isla Ascensión y golfo de Guinea. Concluyen que con cualquiera de los métodos empleados, los resultados sugieren una fuerte conectividad entre las colonias y los sitios dentro de regiones: la composición de los 3 sitios de alimentación del oeste (Nicaragua, Florida y Bahamas) son derivados principalmente de colonias del oeste (México, Costa Rica y Florida), lo mismo sucede con los sitios del este (NE Brasil y Bahía Corisco) contribuidos principalmente por colonias del este (NE Brasil, Trindade, Ascensión, Guinea Bissau y golfo de Guinea). Los autores añaden que para tener conclusiones más precisas, es necesario contar con un mayor número de muestras, así como también incorporar a los análisis los efectos de las corrientes oceánicas.

2.3. Comparación entre marcadores moleculares: ADNmit vs ADNn.

Finalmente, se ha observado que para tener un panorama completo de cómo están estructuradas las poblaciones de tortugas marinas, es de gran utilidad el combinar datos paralelos, particularmente de programas de seguimiento con marcas físicas, rastreos por satélite y el empleo de marcadores nucleares que, por ser heredados de manera biparental, pueden ser contrastados con resultados del ADNmit, para distinguir diferencias entre sexos en los patrones y tasas de flujo génico entre poblaciones. Un ejemplo ha sido la identificación de flujo génico mediado por machos al comparar marcadores mitocondriales con nucleares, en organismos de tortuga verde (Kart *et al.*,

1992). Otro estudio al respecto, fue el que hicieron FitzSimmons *et al.* (1997) analizando las poblaciones de tortuga verde alrededor de las costas de Australia. Entre sus objetivos principales se encontraban: (1) comparar la estructura encontrada dentro y entre las regiones geográficas; (2) comparar entre los loci de microsatélites y longitudes de fragmentos de restricción de copias anónimas únicas del ADN nuclear (ascnDNA por sus siglas en inglés), y (3) comparar la estructura encontrada entre marcadores nucleares y aquellas secuencias de la región control del ADNmit previamente analizadas. Los resultados de este trabajo serían incorporados con los obtenidos por Kart *et al.* (1992) para *C. mydas* en la misma región para fines comparativos. Se encontró una fuerte estructura genética con los dos marcadores nucleares, aunque los datos de microsatélites arrojaron una mayor resolución al identificar diferencias significativas en pruebas pareadas entre regiones. Asimismo, al comparar con el marcador mitocondrial, los niveles de flujo génico entre poblaciones fueron en general más altos con los marcadores nucleares, y aun más pronunciado entre las regiones norte y sur de la Gran barrera arrecifal. Es decir, una estructura regional más moderada con el marcador nuclear. Esto mismo fue observado en el estudio de Kart *et al.* (1992), aunque FitzSimmons *et al.* (1997) encontraron que las ascnDNA tuvieron menos poder y precisión que los microsatélites para detectar subdivisión poblacional. Sugieren que para un mayor conocimiento de las poblaciones de tortuga verde en Australia, es necesario incorporar datos ambientales, ecológicos y genéticos con el fin de investigar la causa de tales diferencias.

Roberts *et al.* (2004) realizaron un estudio muy completo con el objetivo de comparar resultados de varios trabajos hechos con distintas técnicas moleculares. Ellos analizaron 337 individuos de 16 poblaciones de tortuga verde *C. mydas* usando cuatro microsatélites originalmente desarrollados por FitzSimmons *et al.* (1995) para evaluar a nivel mundial el flujo génico entre colonias anidadoras, la conectividad entre poblaciones mediadas por machos, y cómo este flujo puede afectar a la estructura genética de tortugas verdes en este ámbito. El objetivo final era comparar los resultados del uso de los tres diferentes tipos de marcadores moleculares. El estudio con ascnDNA mostró un considerable flujo génico mediado por machos entre las poblaciones, confirmado con los microsatélites dentro de cada cuenca. La visión por medio del ADNmit, reiteró una diferenciación marcada entre las poblaciones de los Océanos Pacífico y Atlántico, mucho más profunda que entre poblaciones dentro de cada cuenca

oceánica. Los tres estudios coincidieron con que existe una cercana relación genética entre las poblaciones del este del Atlántico y las del Océano Índico.

No obstante, la estructuración genética entre poblaciones es, en general, mucho más marcada en la genealogía materna que en la herencia biparental debido a (1) la consistencia en la filopatría de las hembras y (2) que el tamaño efectivo de las poblaciones es mucho menor, puesto que sólo participa el sexo femenino.

2.4. Otras especies.

Uno de los trabajos más recientes y con propósitos comparativos, es el que realizaron Reece *et al.* (2005) con tres especies de tortugas marinas: *Caretta caretta*, *Eretmochelys imbricata* y *C. mydas*, analizando información publicada para un segmento de ~400pb de la región control del ADNmit de 417 individuos (de 20 poblaciones en Florida, México, Brasil y Mediterráneo), 93 (de 7 poblaciones en el Caribe y Brasil), y 147 (de 9 poblaciones en el Océano Atlántico y Mediterráneo), respectivamente para cada especie. Su objetivo principal fue dilucidar los procesos y patrones históricos que pudieron dar origen a la estructura genética encontrada, y cómo estas poblaciones han respondido ante los cambios climáticos sucedidos en el pasado. Debido a que fueron 3 especies distintas las estudiadas, cada una con diferente tamaño de muestra y, por consecuencia, diferente frecuencia de haplotipos, los valores de h se mostraron distintos entre sí. A pesar de que de *Caretta caretta* se contó con un mayor número de muestras, encontraron un total de 7 haplotipos, pocos en comparación a los encontrados para las otras dos especies (17 cada una de ellas), por lo que el valor de diversidad haplotípica para dicha especie fue comparativamente bajo ($h=587$), en tanto que la tortuga Carey obtuvo un valor de $h=0.823$ y la tortuga verde una $h=0.830$. Lo opuesto sucedió con los valores de diversidad nucleotídica, ya que *Caretta caretta* obtuvo el valor más alto de las tres especies, ya que se arrojaron mayores diferencias nucleotídicas entre los 7 haplotipos reportados para dicha especie. Para probar que la variación de la región control por especie no difiere del modelo neutral de evolución, aplicaron las pruebas de neutralidad F_s de Fu (Fu, 1997) y D de Tajima (1989) para cada una de ellas. De acuerdo a los valores de los estadísticos de neutralidad, no se rechazaron los patrones neutrales de evolución para los haplotipos de ninguna de las tres especies. Se realizó un análisis de distribuciones mismatch (Rogers y Harpending, 1992; Rogers, 1995) bajo un modelo de tamaño constante de la población y un modelo de crecimiento/declinación

para identificar patrones históricos de expansión o contracción. La distribución de las diferencias nucleotídicas en las tres especies fue bimodal. Para la tortuga caguama se calculó que la contracción de la población tuvo lugar hace 2.8 millones de años. En cambio, para las otras dos especies se calculó un tiempo de 900,000 años. En general, la mayoría de los parámetros y patrones de genética poblacional, se mostraron muy similares entre las tortugas Carey y verde. Estas similitudes son comprensibles ya que ambas especies anidan en regiones tropicales y se ha demostrado que presentan niveles semejantes de las fuerzas combinadas de su natal homing y su fidelidad a su sitio de anidación (Bass *et al.*, 1996; Encalada *et al.*, 1996; Laurent *et al.*, 1998; Pearce, 2001). Los eventos históricos que los autores creen que pudiesen haber influenciado para encontrar la estructura poblacional de estas tres especies son los cambios climáticos y fluctuaciones en el nivel del mar durante el Pleistoceno, de tal manera que hayan afectado la estructura de las poblaciones (por ejemplo fragmentación vs homogeneización), así como los tamaños de las mismas.

Vianna *et al.* (2006) realizaron el que sería el primer estudio comparativo que incluye a las tres especies de manatíes (*Trichechus manatus* que se distribuye desde Florida hasta la costa noreste de Brasil; *T. inunguis* cuya distribución se halla restringida a la cuenca del Amazonas, y *T. senegalensis* distribuido a lo largo de ríos, estuarios y regiones costeras del oeste de África), a través de métodos filogenéticos y filogeográficos empleando tres distintos marcadores moleculares: región control y citocromo b del ADNmit, y 7 loci de microsatélites. Analizaron un total de 330 muestras, incluyendo 42 de *T. manatus* resultado de un estudio previo de García-Rodríguez *et al.* (1998), y 3 muestras más de dugones que tomaron como grupo externo para comparar entre las dos familias de sirénidos (Trichechidae y Dugongidae). Para el caso de *T. manatus*, 45 sitios polimórficos definieron 20 haplotipos a lo largo de las 10 poblaciones estudiadas. Los niveles de diferenciación interpoblacional revelaron una fuerte estructura, confirmada con el programa BARRIER que definió dos barreras que aíslan, por un lado, a las poblaciones de República Dominicana y Puerto Rico y, por otra parte, a Guyana, República de Guinea y Brasil. La correlación entre las distancias geográficas y genéticas dio no significativa ($P=0.2734$), es decir, no encontraron una relación entre dichas matrices. En cambio, la correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas calculadas siguiendo la línea de costa, fue altamente significativa ($P=0.0002$), lo cual hace suponer que los manatíes migran a lo largo de la costa. La estructura dilucidada en cada uno de los análisis, fue igualmente observada

con las distribuciones desiguales o mismatch, encontrando un patrón multimodal. Referente al manatí del Amazonas, 34 sitios polimórficos definieron un total de 31 haplotipos. De acuerdo a las pruebas de diferenciación, encontraron 18 subpoblaciones, considerando además la conectividad de ríos, lagos y canales. Los patrones de distribución desigual fueron principalmente unimodales, lo cual indica una población con cuello de botella seguido de un evento de expansión. La prueba de neutralidad de Tajima fue significativa, mostrando un gran número de haplotipos raros, lo cual puede ser un reflejo de (1) un claro indicio de expansión poblacional, o (2) de selección direccional. Para la última especie, *T. senegalensis*, 5 haplotipos fueron caracterizados por 15 sitios polimórficos, y los niveles de diferenciación fueron bajos para las cuatro poblaciones analizadas de las costas de África. Entre las tres especies de *Trichechus* fueron detectados 80 sitios polimórficos para la región control del ADNmit. La especie de las costas de África obtuvo una mayor diversidad haplotípica ($h=0.93$), mientras que la diversidad nucleotídica más baja la obtuvo la especie del Amazonas ($\pi=0.0053$). La construcción de un árbol de unión del vecino más cercano (“Neighbor Joining”) basado en las secuencias de la región control del ADNmit, mostró que las relaciones filogenéticas entre las tres especies sugieren que *T. manatus* y *T. inunguis* forman un clado monofilético. Al analizar 615 pb del gen del citocromo b, se observó este mismo comportamiento para las tres especies objetivo, mostrando a *T. inunguis* como la especie basal del clado. Con los tres marcadores moleculares, incluyendo los microsatélites, se evidenció la presencia de híbridos entre las especies de *T. manatus* y *T. inunguis* en la boca del río Amazonas, en Brasil, extendiéndose a las Guayanas y muy probablemente hasta la boca del río Orinoco.

III. JUSTIFICACIÓN.

A pesar del estado precario de conservación de la tortuga verde a nivel mundial (Lista Roja-IUCN, 2002), en los últimos 15 años se ha observado un aumento consistente y a lo largo de todas las colonias de anidaciones del Atlántico mexicano (Garduño *et al.*, 2001; Abreu-Grobois, *com pers*), así como en poblaciones índice de la especie en el Atlántico occidental (Seminoff, 2002). Estos datos alentadores son indudablemente resultado de las políticas de conservación en diferentes ámbitos geográficos y políticos. En México los programas de conservación, principalmente en playas, que incluyen acciones nacionales y estatales iniciadas desde la década del 70 y continuadas hasta el presente por colaboraciones entre varios sectores. Muy particularmente, ha ayudado la veda total a la captura de tortugas marinas (1990). En el ámbito regional, la implementación de tratados internacionales como la CITES y las medidas que ha tomado cada país y que disminuyeron significativamente la captura industrial para fines del comercio internacional, ha contribuido no sólo a mejorar la condición de las poblaciones donde se han realizado las medidas, sino también las poblaciones a nivel regional dado que son especies migratorias y cada población, durante su ciclo de vida, cruza o aprovecha hábitats en distintas jurisdicciones nacionales. Sin embargo, aún persisten amenazas como la pesca incidental, captura legal en algunos países, la pérdida o transformación de hábitat de manera discontinua a lo largo de su vasta área de distribución. Debido al prolongado tiempo de desarrollo de la especie, sólo hasta después de varias décadas se pueden percibir los resultados de impactos puntuales que afectan a poblaciones particulares. En el caso de México, los desarrollos turísticos afectan distintas extensiones y en distinta magnitud a las colonias reproductoras de la especie que anidan en distintas playas desde Tamaulipas hasta Quintana Roo. Además, la pesca incidental y la clandestina podría afectar en diferentes grados las poblaciones dependiendo de las proporciones en que estén representadas en los sitios de agregación marina sujetas a este tipo de mortandad.

Al desconocer el estado de las UM mexicanas de la tortuga verde, es imposible dar seguimiento tanto de los aumentos en las poblaciones como de los impactos de los factores de presión sobre las diferentes poblaciones. Para lograr esta capacidad es necesario responder a preguntas tales como: 1) ¿Cuántas UM hay y dónde anidan?; 2) ¿Cuántas y cuáles UM de tortuga verde que nacen en México permanecen en sitios de alimentación del país y cuáles se desplazan a hábitats de desarrollo en otras regiones del

Caribe?; 3) ¿Cuáles sitios de alimentación en la región son usados por las UM mexicanas? Más de una línea de investigación sugiere que pudiera existir más de una UM de tortuga verde entre las poblaciones mexicanas.

Los resultados de marcado físico han mostrado que las hembras adultas de *C. mydas* migran grandes distancias desde sus sitios de alimentación hasta las playas de anidación y que normalmente regresan al mismo lugar a depositar sus huevos durante toda su etapa adulta (Carr, 1986; Carr, Carr y Meylan, 1978; Meylan, 1982). En el caso del Caribe, resultados recientes de recaptura en Cuba de tortugas verdes marcadas en la región (Moncada *et al.*, 2006), sugieren un comportamiento migratorio distinto para las colonias de la especie de Quintana Roo (que han sido recapturadas en sitios de alimentación en Cuba) que las de Campeche y Yucatán (que han permanecido ausentes). Rastros satelitales de hembras de tortuga verde posteriores a su anidación en Veracruz indica que migran a un sitio de alimentación en el extremo SW de Florida (Kinzel, 2001). Estos estudios han sido reforzados mediante el uso, de manera exitosa, de marcadores moleculares que nos han aportado mayores conocimientos sobre la ecología y evolución de las tortugas marinas (Norman *et al.*, 1994; Bowen y Karl, 1997; Bowen, 2003).

Los estudios genéticos más útiles para los objetivos de manejo han enfocado linajes maternos de la región control del ADNmit realizados en el ámbito regional. Este locus presenta un tamaño efectivo de la población de una cuarta parte de los genes nucleares, por lo cual exhibe altas tasas de diferenciación local por deriva génica y, por tanto, mayor sensibilidad a los procesos demográficos de relevancia para el manejo. Estos mismos análisis han confirmado, para las hembras, una fuerte tendencia de fidelidad a los sitios de anidación que promueve una estructuración genética a nivel de la cuenca Atlántica.

Hasta el momento, los únicos resultados genéticos sobre las colonias mexicanas proviene de un estudio regional por Encalada *et al.* (1996) que solamente analizó una pequeña muestra (n=20) de las colonias que anidan en las playas de Xcacel e Isla de Cozumel, Quintana Roo, para un segmento parcial de la región control. No obstante que el trabajo fue realmente “local” para un par de poblaciones del estado de Quintana Roo, las publicaciones subsecuentes que usaron estos datos realizan conclusiones que consideran aplican a todo México.

El proyecto de investigación en el que este trabajo se integra, será el primero con una cobertura geográfica de la distribución total de colonias de tortuga verde en un solo

país, siendo esta distribución de las más extensas dentro de un solo país para la especie. Por esto, este estudio representa una oportunidad singular para generar información esencial para la planificación de estrategias de manejo y conservación en el ámbito regional. Este enfoque permitirá corregir y ahondar el limitado conocimiento que se ha manejado en la literatura internacional sobre las características y estructuración genética de la especie en México.

IV. OBJETIVOS.

4.1. Objetivo general.

Determinar la estructura genética de las poblaciones de la tortuga verde, *C. mydas*, dentro de su área de reproducción en las costas mexicanas del golfo de México mediante el análisis de la región control del ADN mitocondrial.

4.2. Objetivos específicos.

Analizar la distribución geográfica de la variación en la región control del ADNmit en las principales colonias anidadoras de esta región.

- Comparar niveles de diversidad genética entre las colonias estudiadas, con respecto de los valores reportados para otras colonias de la especie para otras regiones en el país y en el extranjero.
- Determinar los niveles de flujo génico entre colonias para determinar el grado de conectividad.
- Discutir los procesos evolutivos que podrían explicar los patrones geográficos observados en la distribución de la variación genética.
- Usar nuestros resultados para determinar la contribución de colonias mexicanas a hábitats de alimentación y desarrollo con datos de composiciones haplotípicas ya reportados en la cuenca Atlántica.

5. ÁREA DE ESTUDIO.

El estudio se enfocó en las 10 playas de anidación más importantes de *C. mydas* de cuatro estados del golfo de México: Tamaulipas, Veracruz, Campeche y Yucatán (mapa en Figura 2). El único estado no incluido es Tabasco porque no se conocen registros de anidación en sus playas (Garduño *et al.*, 2001 en Cisneros *et al.*, 1999-2000).

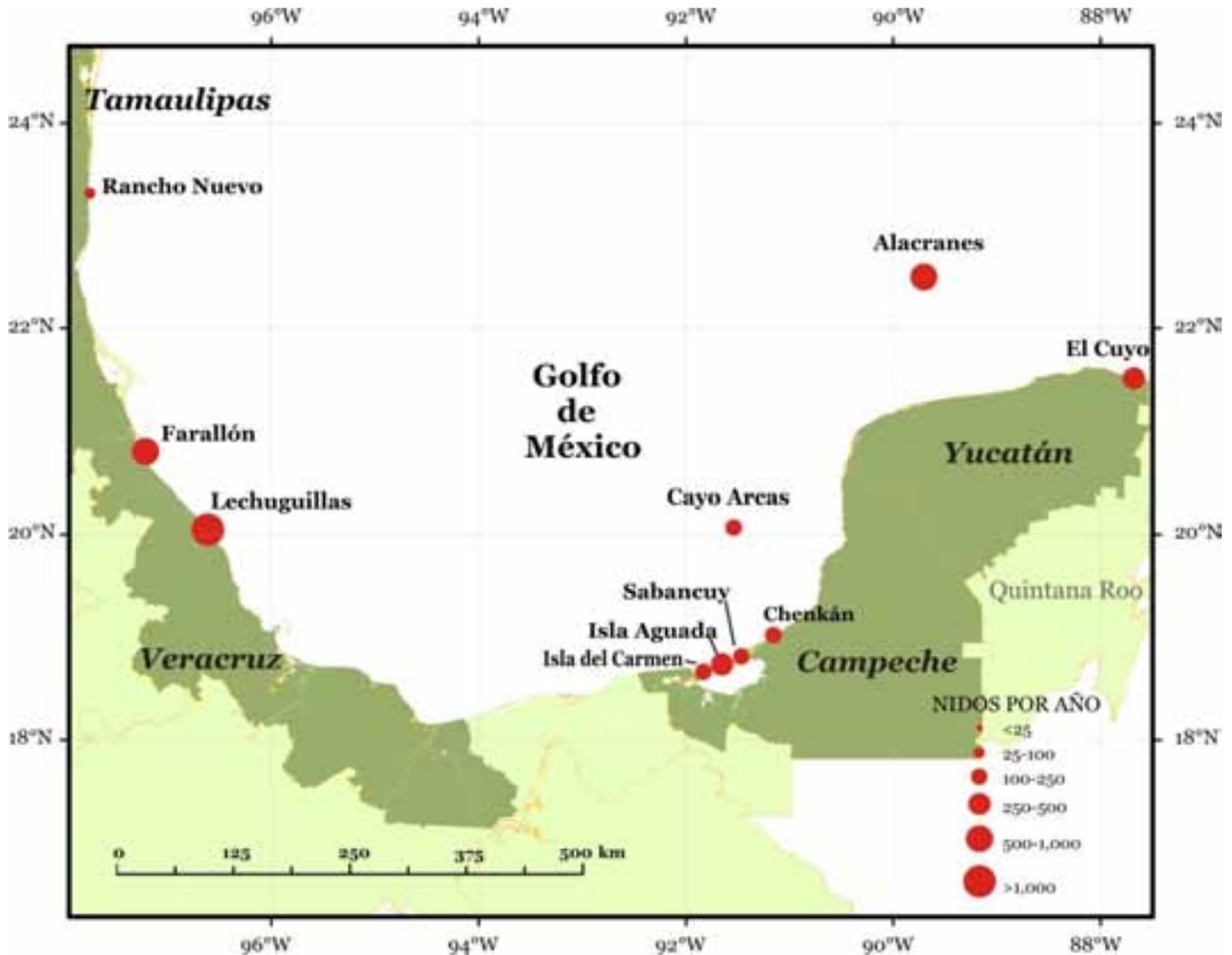


Figura 2. Localización de los sitios de muestreo y el tamaño poblacional de cada colonia de anidación (medida por número de nidos por año). En color claro los estados no muestreados. * En el país, Cabo Catoche es el límite geográfico entre el golfo de México y el Caribe; esta última área no se incluyó porque corresponde a otra porción del proyecto global.

Tabla 1. Ubicación geográfica de las playas de anidación que serán muestreadas.
* Área natural protegida.

Sitios	Estado	Nombre de la playa	Ubicación	Long (Km)
1	Tamaulipas	Rancho Nuevo*	23° 19' N - 97° 45' O y 23° 03' N - 97° 45' O	30.2
2	Veracruz	Lechuguillas*	20° 12' N - 95° 45' O y 19° 45' N - 98° 20' O	13
3		Chaparrales-Farallón	20° 3' N - 96° 37' O y 20° 10' N - 96° 42' O	18
4	Campeche	Isla del Carmen	18° 37' N - 91° 53' O	38
5		Isla Aguada*	18° 46' N - 91° 28' O y 18° 56' N - 91° 17' O	27.7
6		La Escollera/Sabancuy	18° 56' N - 91° 17' O y 19° 3' N - 91° 5' O	24.5
7		Chenkán	19°09'N-90°54'O	20
8		Cayo Arcas	20°13'N - 91°58'O	2.4
9	Yucatán	Arrecife Alacranes	22.5N - 89.7O	2.8
10		El Cuyo	21° 35' N - 88° 14' O y 21° 30' N - 88° 39' O	31

6. METODOLOGÍA.

6.1. Obtención de las muestras.

Las muestras fueron obtenidas de tejidos extraídos de neonatos que no lograron sobrevivir por causas naturales en sus primeros días después de nacer, por muestra de sangre o por biopsia superficial utilizando una pequeña punción en aletas traseras de hembras anidantes, todos métodos demostrados que no afectan la salud del organismo (Dutton, 1996). Se seleccionaron nidos dentro de un período de 14 días para evitar tomar productos de mismas madres. Los tejidos recolectados fueron preservados en solución de NaCl saturada (Amos y Hoelzel, 1991. ANEXOS I y II) y congelados para su posterior análisis o almacenamiento permanente en la Colección de tejidos y ADN del laboratorio.

Un total de 369 muestras fueron recolectadas en 10 playas de anidación de *C. mydas* en la distribución completa de hábitats de reproducción de la especie en el golfo de México, desde Veracruz hasta Yucatán y con excepción de Tabasco donde no anida. Durante la temporada 2005 se obtuvieron muestras de 5 playas de anidación de los cuatro Estados que comprende el área de estudio. De un total de 149 muestras, sólo 138 se procesaron, ya que de Rancho Nuevo, Tamaulipas llegaron 11 repetidas. En el 2006 se recibió un mayor número de muestras, en total 220 de 8 playas de todos los estados donde anida exceptuando Tamaulipas, procesándose 217, ya que venían 3 repetidas de Chenkán (Tabla 2).

Tabla 2. Total de muestras recibidas durante las dos temporadas (2005-2006), incluyendo las que llegaron repetidas de las poblaciones de Rancho Nuevo y Chenkán. * Indica playas índice (programas de largo plazo) para los programas de conservación de tortugas marinas en la región.

Sitios	Estado	Playa de anidación	# muestras 2005	# muestras 2006	Contacto
1	Tamaulipas	Rancho Nuevo*	36	0	Jaime Peña
2	Veracruz	Chaparrales-Farallón	12	0	Rafael Bravo
3		Lechuguillas*	37	56	Rafael Bravo
4	Campeche	Chenkán	0	7	Vicente Guzmán
5		Isla Aguada*	50	50	Vicente Guzmán
6		Cayo Arcas	0	14	Vicente Guzmán
7		La Escollera/ Sabancuy	0	30	Vicente Guzmán
8		Isla del Carmen	0	10	Vicente Guzmán
9	Yucatán	Arrecife Alacranes	0	23	Eduardo Cuevas
10		El Cuyo*	14	30	Eduardo Cuevas
* Playas índice			149	220	

6.2. Método de extracción de ADN de las muestras.

El procedimiento de extracción del ADN de las muestras se hizo mediante el método de precipitación con Cloruro de Litio (Aijanabi y Martínez, 1997. ANEXO III). Para evaluar la calidad del ADN, se corrieron los productos en geles de agarosa de 8 x 10 cm (1%) en electroforesis a 49 V durante 1.5 hrs. Enseguida se tiñeron en una solución de Bromuro de Etidio 0.05 µg/ml durante 30 minutos y se visualizaron en un transiluminador de UV. Una vez documentados, se llevó a cabo un análisis cuantitativo de la concentración del ADN de las muestra por densitometría (intensidad de fluorescencia, descrito en la siguiente sección). Finalmente, los productos obtenidos fueron almacenados bajo refrigeración a -20°C para su posterior amplificación.

6.3. Evaluación y estandarización del ADN.

Para medir la concentración de ADN y de los productos amplificados en PCR, se empleó el método de Densitometría (NORGEN, 2004. ANEXO IV), comparando la intensidad de la fluorescencia de las bandas contra un estándar específico para estimar la cantidad de producto en ng de ADN y el tamaño en número de pares de bases (HyperLadder IV, Bioline 33030). Con este método se estandarizaron las cantidades de ADN a utilizarse para la amplificación por PCR, ya que ésta exige un intervalo definido para que los resultados sean favorables. Además de su utilidad, la técnica de Densitometría es eficiente puesto que se pueden aprovechar la electroforesis tanto para identificar el éxito de la extracción como para la cuantificación.

Las valoraciones se hicieron con el programa SCION Image, que permite medir (a través de la fotografía digital) la intensidad de cada banda expresada en pixeles, seleccionando un área determinada. Los datos se comparan con valores del estándar para convertir con la curva de regresión de pixeles vs ng ADN a cantidad de nanogramos (ng) en cada banda evaluada por medio de una plantilla en Excel diseñada en el Laboratorio de Genética.

6.4. Amplificación de la región control por PCR, purificación y secuenciación.

Un segmento de aproximadamente 900 pb de la región control del ADNmit fue amplificado utilizando un nuevo par de oligos: LCM15382 (5'-GCTTAACCCTAAAGCATTGG-3') y H950g (5'-GTC TCG GAT TTA GGG GTT TG-3') diseñados en el laboratorio (Abreu-Grobois, in prep), y que amplifican desde 134 pb antes del inicio de la región control (en la dirección 5') hasta 782 pb dentro de la misma. Para la PCR, se utilizaron reacciones en volúmenes de 25 ó 50 µl, conteniendo concentraciones finales de:

- MgCl₂ 2.5 mM,
- Oligos 0.5 microM,
- dNTPs 0.2 mM,
- 20-50 ng de template ADN,
- una unidad/25 µl de Taq polimerasa (BIOLASE DNA Polimerase, de BIOLINE), y
- Buffer PCR 1X

La composición del buffer PCR (10X) fue de TRIS-HCl 1M, pH 8.8 conc. 100mM, KCl 2.5 conc. 500mM, MgCl₂ 1M conc. 15mM, TRITON X-100 1%, agua estéril 18Mmoh, NP-40 0.10 %).

La PCR fue realizada en un termociclador MyCycler de BioRad. Los productos de PCR fueron cuantificados por densitometría para determinar los niveles de concentración o dilución que serían necesarios para lograr 10-15 µl a 50 ng/µl que son necesarios para una secuenciación exitosa (Macrogen, Inc; Seúl, Corea)

Los productos amplificados fueron purificados y concentrados (cuando fue requerido) con filtros minElute (QIAGEN. ANEXO V) y cuantificados por densitometría para verificar la concentración y enviados para su secuenciación.

6.5. Análisis de datos.

Las secuencias de la región control fueron alineadas con el programa Clustal W (Thompson, 1994) implementado en BioEdit (Hall, 1999) y agrupadas por haplotipo después de comparar con aquellas reportadas por Encalada *et al.* (1996), en el Internet (<http://accstr.ufl.edu/cmmtDNA.html>), con las del laboratorio (Abreu-Grobois *et al.*, 1996) y otras que son parte de trabajos en proceso. Se compilaron todas las secuencias disponibles alineadas y en formatos compatibles (FastA) para su análisis comparativo.

6.5.1. Evolución de las secuencias en la cuenca del Atlántico.

(a) Redes TCS.

Una genealogía para las relaciones evolutivas entre los haplotipos reportados para *C. mydas* en el Atlántico, más los que se encontraron en el presente estudio, se hizo con el programa TCS v.1.2.1. (Clement *et al.*, 2000). Este programa determina las uniones más parsimoniosas entre el conjunto total de los haplotipos a partir del número de sustituciones entre las secuencias y sus relaciones con los demás haplotipos con un criterio de parsimonia al 95%, aplicando el método de Templeton *et al.* (1992), y empleando dos grupos externos: (1) una secuencia del linaje del Pacífico de *C. mydas* proveniente de Baja California (CmP; datos no publicados) y (2) una de *Caretta caretta* (GenBank acc num L35254). La red que resulta permite una indicación de cómo estos se han diferenciado. Todos los índices de más de 2 pb de las secuencias fueron

recodificados a un solo cambio (sustitución) para ser considerados como sólo un evento de mutación.

(b) Árboles filogenéticos

Se realizó un árbol filogenético enraizado bajo el algoritmo de Neighbor Joining en MEGA a partir de una matriz de distancias entre todos los haplotipos reportados para *C. mydas* generada en el programa PAUP e incorporando los dos grupos externos que se emplearon en la reconstrucción de la red de haplotipos. Para las determinaciones de distancia se aplicó el modelo de evolución que más se ajustaba a nuestros datos de acuerdo a MODELTEST (Posada *et al.*, 1998) con base al criterio de información de Akaike (AIC, ecuación 1; Akaike, 1974). Algunos modelos de sustitución nucleotídica incluyen parámetros que describen la frecuencia de las bases, las tasas de sustitución de cada nucleótido, o la distribución de la tasa de evolución entre los sitios y entre linajes (Posada, 2003). Entre 56 modelos probados, según el AIC el mejor modelo es aquél que tiene el valor más bajo:

$$(1) \quad \mathbf{AIC=2\ln L+2N}$$

Donde: *L* es el valor de máxima verosimilitud para un modelo específico usando *N* parámetros ajustados independientemente dentro de dicho modelo.

Todos los análisis de diversidad genética [haplotípica (*h*) y nucleotídica (π)], diferenciación entre poblaciones, y el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), fueron calculados en Arlequín v.3.1.1. (Excoffier *et al.*, 2005).

6.5.2. Diversidad intrapoblacional.

Los análisis de variación genética dentro de las poblaciones se realizó contabilizando número de haplotipos, y estimando la diversidad haplotípica (*h*) y nucleotídica (π) se realizaron con el programa Arlequín v.3.11. (Excoffier, *et al.*, 2005).

La diversidad haplotípica (Nei, 1987; ecuación 2) es definida como la probabilidad de que dos haplotipos elegidos al azar sean diferentes:

$$(2) \quad \hat{H} = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)$$

Donde: h = diversidad haplotípica; n = número de individuos analizados en una muestra; k = número de haplotipos; p_i = frecuencia de cada haplotipo; l = número de haplotipos únicos detectados.

De igual forma se calculó la diversidad nucleotídica (Nei, 1987; Tajima, 1983; ecuación 3) para cada población. Este parámetro nos indica las diferencias nucleotídicas entre pares de haplotipos:

$$(3) \quad \hat{\pi} = \frac{n}{n-1} \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k p_i p_j d_{ij}$$

Donde: π = diversidad nucleotídica; n = tamaño de muestra; k = número de haplotipos; p_i y p_j = frecuencia de los haplotipos i y j ; d_{ij} = número de mutaciones ocurridas desde la divergencia de los haplotipos i y j .

Se evaluaron los niveles de diversidad intrapoblacional e interpoblacional de diferenciación, distribución geográfica de la variabilidad, estructura genética y filogenia entre secuencias y entre poblaciones, usando los programas MEGA v.4 (Kumar *et al.*, 2001) y Arlequín v.3.1.1. (Excoffier, *et al.*, 2005).

6.5.3. Diferenciación entre poblaciones.

La diferenciación genética entre pares de poblaciones se calculó usando las frecuencias absolutas de los haplotipos encontrados en este trabajo para las colonias del golfo de México, e incorporando los datos de aquellas del resto del Atlántico de las que existen datos publicados, con el programa Arlequín v.3.11 (Excoffier *et al.*, 2005). Se generaron matrices con valores de distancias genéticas usando el índice F_{ST} convencional (Wright, 1951), basado sólo en frecuencias haplotípicas, así como con el Φ_{ST} , análogo del F_{ST} , que además de tomar en cuenta la divergencia entre las secuencias, incorpora las distancias genéticas entre los haplotipos, usando para este estimador el modelo de distancias genéticas más cercano al identificado en el programa MODELTEST como el mejor para nuestro grupo de datos. En todos los casos, la prueba de significancia estadística se basó en 10,000 permutaciones. Se compararon los

valores del índice F_{ST} convencional con los de Φ_{ST} para dilucidar qué procedimiento nos brinda una mayor resolución para nuestro conjunto de datos, y para conocer el tipo de aislamiento entre las poblaciones del golfo de México (Medrano-González, 2006).

Se aplicó la corrección de Bonferroni secuencial (Rice, 1989) a las matrices de diferenciación interpoblacional derivadas con ambos parámetros (F_{ST} y Φ_{ST}), para corregir los valores originales de Probabilidad tomando en cuenta el diferente número de posibles variables explicativas; análisis realizado a través del programa MacBonferroni (Watkins, 2002). Los resultados derivados después de aplicar la corrección de Bonferroni secuencial, no fueron considerados por presentar errores de Tipo II debido al pequeño tamaño de muestra de algunas colonias analizadas.

6.5.4. Estructura genética.

La estructura genética de las colonias de anidación del golfo de México, se estimó por medio de un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA; Weir, *et al.*, 1984; Excoffier *et al.*, 1992; Weir, 1996) para determinar por medio de diversas combinaciones de agrupaciones de conjuntos de poblaciones estudiadas y las demás de la región reportadas en la literatura, cómo se distribuye la variabilidad genética jerárquicamente (dentro y entre colonias, y entre agrupaciones seleccionadas), usando 10,000 permutaciones en Arlequin 3.11. Empleando esta herramienta analítica se pudo estudiar el grado de estructuración de las poblaciones de la región y del resto del Atlántico y, por consiguiente, verificar la identificación de las unidades demográficas discretas (o Unidades de Manejo; UM). Los AMOVAs se realizaron bajo dos vertientes comparativas: índices de diferenciación genética bajo el estimador F_{ST} convencional, y a través del modelo de distancias genéticas del programa Arlequin más similar al establecido por MODELTEST.

Como complemento a la identificación de las UM, se calcularon también los niveles de flujo génico (Nm , equivalente al número de migrantes entre colonias por generación) entre las colonias del golfo de México y entre éstas y las del resto de la cuenca Atlántica y Mediterráneo. Para ello se aplicó el análogo de F_{ST} (Φ_{ST}) del algoritmo de análisis de varianza molecular (AMOVA) en el Arlequin y usando la ecuación $Nm=(1-F_{ST})/(2*F_{ST})$ (Slatkin, 1995). Estas corridas fueron evaluadas por

medio de estimaciones del F_{ST} convencional (usando frecuencias haplotípicas exclusivamente).

Debido a la presencia de ambigüedades al momento de identificar las UM, se utilizó adicionalmente el programa BARRIER v.2.2 (Manni *et al.*, 2004), para definir la ubicación de las barreras geográficas que mejor explican los gradientes en la diferenciación genética entre las colonias, tomando simultáneamente su posición geográfica. Como insumos para este programa se usaron las coordenadas geográficas de cada población en grados decimales y la matriz de distancias genéticas entre pares de poblaciones derivadas del Arlequín con base en estadístico F_{ST} convencional. BARRIER identifica aquellas áreas donde las barreras genéticas fueran más robustas (gradientes más pronunciadas) y genera una representación gráfica de la triangulación de Delaunay (Delaunay, 1934; Brassel y Reif, 1979) en conjunto con un diagrama de Voronöi (Voronöi, 1908).

Para verificar las agrupaciones encontradas, también se buscaron las subdivisiones poblacionales a través de un Análisis Espacial de Varianza Molecular (SAMOVA) mediante el programa SAMOVA v.1.0 (Dupanloup *et al.*, 2002), el cual identifica agrupaciones de poblaciones que maximizan la diferenciación entre grupos aplicando internamente un AMOVA, pero toma en cuenta también la ubicación geográfica. Para este análisis se tomó como medida genética el estadístico F_{ST} convencional.

6.5.5. Historia demográfica de las poblaciones.

Se determinaron los parámetros de expansión demográfica para cada colonia estudiada del golfo de México, a través de un análisis de distribuciones desiguales (Mismatch distributions, Li *et al.*, 1977), empleando el programa Arlequín y con base en las diferencias pareadas (“pairwise differences”). Los valores de significancia de esta prueba fueron determinados por 10,000 permutaciones. Este análisis genera una distribución de frecuencias del número de diferencias entre pares de los haplotipos encontrados en cada población. Según el modelo de expansión súbita de Rogers y Harpending (1992) esta distribución nos permite deducir si se trata de una población que ha sufrido una reciente expansión (distribución unimodal), o si se trata de una población estable o en equilibrio (distribución multimodal). La distribución gráfica observada en las poblaciones del golfo de México, fue comparada con los valores de

“Raggedness” (nivel de rasgado o irregularidad) derivados en el mismo programa, ya que valores bajos de este parámetro son representativos de poblaciones con una distribución unimodal. Empleando el parámetro Tau (τ , número de sustituciones nucleotídicas entre pares de haplotipos) derivado del mismo programa, calculamos el tiempo (t , ecuación 4) desde que transcurrió la expansión:

$$(4) \quad t = \tau / 2u$$

Donde: $u = \mu k$; μ es la tasa de mutación, y k es el número de nucleótidos de la secuencia.

Se consideró una tasa de mutación de 0.01751 sustituciones/sitio por millones de años (Formia *et al.*, 2006), que a su vez coincide con la calculada por Encalada *et al.* (1996) de 1.2-2.4% por sitio por millones de años.

En conjunto con este análisis, se realizaron dos pruebas de neutralidad: la de Tajima y la de Fu (Fu, 1997), ambos estimadores arrojados en Arlequín, para definir cuál es más sensible para detectar si los polimorfismos encontrados en los haplotipos se ajustan a un modelo neutral de evolución.

Para determinar si la diferenciación entre las poblaciones bajo estudio obedece el modelo de aislamiento por distancia, se evaluó la relación entre dos matrices de proximidad, aplicando un análisis de regresión lineal entre las distancias geográficas (km) y distancias genéticas (F_{ST} convencional). El nivel de significancia de esta correlación fue estimado usando la prueba de Mantel (10,000 permutaciones) implementada en GenAlex v.6. (Peakall y Smouse, 2006), herramienta suplemento de Excel. La distancia más corta entre las colonias de anidación se calculó considerando la curvatura de la Tierra mediante el programa Google Earth.

6.5.6. Evaluación de la contribución de stocks mexicanos a hábitats de alimentación.

La información de composición haplotípica de las unidades de manejo de tortuga verde en México fue usada como insumo para estimar los niveles en que éstas contribuyen a sitios de alimentación que se han estudiado genéticamente (Lahanas *et al.*, 1998; Bass *et al.*, 1998; Bass y Witzell, 2000). Se utilizaron dos enfoques para el “análisis de stocks mezclados” (MSA por sus siglas en inglés; Ref. Utter *et al.*, 1993) que estiman la contribución de cada unidad a los sitios de agregación marina. Se aplicó un método de máxima verosimilitud “UML” (Unconditional Maximum Likelihood), que considera

errores de muestreo y haplotipos con baja frecuencia. También se aplicó un enfoque Bayesiano con el algoritmo “Many-to-many” que conlleva la ventaja de permitir incorporar información complementaria sobre las poblaciones bajo estudio, como en este caso los tamaños poblacionales que han sido identificados como primordiales para realizar una evaluación robusta (e.g. Bass *et al.* 2006). Ambos algoritmos fueron corridos con el paquete estadístico “Mixstock” de Bolker *et al.* (2007) dentro del ambiente estadístico R v. 2.6.2. (The R Foundation for Statistical Computing) en complemento con el programa WinBUGS (Spiegelhalter, *et al.*, 2003). Este paquete estadístico fue desarrollado específicamente para el análisis de marcadores de ADNmit de poblaciones de tortugas marinas, y conserva muchas de las bases del original modelo Bayesiano para el análisis de stocks mezclados (Pella y Masuda, 2001). En el método Many-to-many permite incorporar información que se tiene a priori de las colonias analizadas como covarianza ecológica (Okuyama y Bolker, 2005), para obtener una estimación más potente de las contribuciones y, arroja los resultados a través de dos modalidades: (1) la proporción de individuos en cada sitio de alimentación contribuido por cada una de las diferentes posibles fuentes (“foraging-ground centric”) y (2) la proporción de individuos de cada colonia yendo a cada sitio de alimentación (“rookery-centric”). En la última se genera también un sitio de agregación hipotético que agrupa sitios desconocidos (no evaluados) al que le ascribe el programa el porcentaje restante de la contribución de la población que no se determina en las agregaciones evaluadas.

Para este proyecto, incorporamos el tamaño de las poblaciones de *C. mydas* en el Atlántico y Mediterráneo estimado en hembras/año.

7. RESULTADOS.

7.1. Características genéticas de las poblaciones.

7.1.1. Composición haplotípica.

En 333 muestras secuenciadas, 41 sitios polimórficos definieron un total de 7 haplotipos (CM-A1, CM-A3, CM-A5, CM-A18, CM-A27, CM-A47 y uno desconocido) distribuidos en los cuatro estados del golfo de México (Tabla 3); 4 de ellos (CM-A1, CM-A3, CM-A5 y CM-A18) reportados anteriormente en el trabajo realizado por Encalada *et al.* (1996) que incluyó únicamente dos colonias de Quintana Roo, 2 (CM-A27 y CM-A47) que no habían sido vistos en colonias mexicanas y, finalmente, un haplotipo que se reportó como nuevo. Este último haplotipo se nombró como CM-A58 siguiendo la nomenclatura propuesta por el Archie Carr Center.

Se observó la presencia de una inserción (una Adenina) en el sitio 629 (región 3') contando a partir del inicio de la región control, en los haplotipos CM-A1 y CM-A18, que finalmente se denominaron, en conjunto, como A1.1 (sin inserción) y A1.2 (con inserción), mismo procedimiento aplicado como el haplotipo CM-A18, para fines de diferenciación. No obstante, todos los análisis de nuestros datos se hicieron comparando los haplotipos encontrados en las colonias del golfo de México, con los reportados en playas de anidación de *C. mydas* a lo largo del Atlántico y Mediterráneo y cuya longitud de secuencias es de ~488 pb, por lo tanto, para fines comparativos y debido a la baja frecuencia con que estas mutaciones aparecen (un haplotipo CM-A1.2 y 3 CM-A18.2 solamente en el Cuyo; Tabla 4) hemos considerado el segmento corto y agrupar los haplotipos en CM-A1 y CM-A18 para todos los análisis estadísticos. Esta misma inserción también aparece en las dos muestras del nuevo haplotipo CM-A58.

En las 25 muestras analizadas de Rancho Nuevo, Tamaulipas, se determinaron 3 haplotipos distintos: el CM-A1.1 con una frecuencia de 68%, el CM-A3 con un 24% y, por último, el haplotipo CM-A58 con un 8%, que se diferencia del CM-A15 por una transición (T > C) en el sitio 81 de la región control.

En Veracruz se observaron los haplotipos CM-A1.1, CM-A3 y CM-A18.1, en una proporción de 85, 13 y 2%, respectivamente, en las 98 muestras analizadas. En el caso de Farallón (n=11), el haplotipo CM-A1.1 se encuentra en un 73%, mientras que el CM-A3 en un 27%; en el Llano (n=51) se observaron los haplotipos CM-A1.1 y CM-

A3 en una proporción de 82 y 18%, respectivamente, en tanto que en Coyotes (n=36), predominó el haplotipo CM-A1.1 en un 92%, seguido del CM-A1 (3%) y del CM-A18.1 (6%).

En las muestras obtenidas de las 5 colonias de Campeche (n=154) en ambas temporadas, se observó en una mayor proporción el haplotipo CM-A3 (83%) seguido del CM-A18.1 (14%), y en mucha menor proporción los haplotipos CM-A5 y CM-A47, con un 1 y 3%, respectivamente, y sólo en la población de cayo Arcas. Es notable que este último haplotipo no fuera observado en ninguna otra población muestreada y es la primera ocasión que se presenta en México.

En Yucatán, en la colonia de El Cuyo se determinaron 3 haplotipos: CM-A1.1, CM-A1.2, CM-A3 y CM-A18.2, con unas proporciones de 3, 3, 85 y 9%, respectivamente. En Alacranes se detectaron en total 4: el CM-A1.1 (con un 17%), CM-A3 (18%), CM-A5 (13%), y CM-A27 (22%).

En general, el haplotipo más abundante y distribuido en las colonias que anidan en playas mexicanas del golfo de México fue el CM-A3 con una frecuencia del 56%, seguido del CM-A1.1 con un 32%. Con una menor distribución y abundancia se observaron los haplotipos CM-A18.1 en un 7% de las muestras, globalmente, y el CM-A1.2, CM-A5, CM-A18.2, CM-A27, CM-A47 y el nuevo CM-A58, cada uno con menos del 3% a nivel regional.

De los 7 haplotipos encontrados, exceptuando el CM-A58 y sin considerar las nuevas variantes de los haplotipos CM-A1 y CM-A18, cuatro ya habían sido reportados en playas de anidación de *C. mydas*, así como también en sitios de alimentación de esta especie a lo largo de toda la cuenca Atlántica. El haplotipo CM-A27 sólo había sido observado en dos individuos en un sitio de alimentación de Carolina del Norte, EUA (Bass *et al.*, 2006), y en una colonia ubicada al sureste de Cuba (Espinosa *et al.*, 2000) en tanto que del CM-A47 no se conoce el origen (Bjorndal y Bolten, sin publicar), suponiendo también que sólo ha sido encontrado en agregaciones marinas. A pesar de que 4 haplotipos ya se habían identificado en dos colonias mexicanas de Quintana Roo (Encalada *et al.*, 1996), su presencia en colonias del golfo de México se desconocía.

Tabla 3. Composición haplotípica para colonias de tortuga verde en el golfo de México.

Estado	TAMAULIPAS		VERACRUZ				CAMPECHE					YUCATÁN		Totales	Frec. relativa		
	Playa	Rancho Nuevo	Farallón	Coyotes		El Llano	I.del Carmen	Isla Aguada	Sabancuy	Chenkán	cayo Arcas	El Cuyo	Alacranes				
Temporada	'05	'05	'05	'06	'05	'06	'06	'05	'06	'06	'06	'06	'05 y '06	'06			
CM-A1.1	17	8	13	20	18	24							1	4	105	32	
CM-A1.2													1		1	0	
CM-A3	6	3	1		4	5	9	45	39	23	3		9	28	11	186	56
CM-A5													1		3	4	1
CM-A18.1				2				3	11	6	1					23	7
CM-A18.2													3			3	1
CM-A27														5		5	2
CM-A47													4			4	1
CM-A58	2															2	1
Totales	25	11	14	22	22	29	9	48	50	29	4		14	33	23	333	100

Tabla 4. Frecuencias haplotípicas (%) para colonias de tortuga verde en el golfo de México.

Haplotipo	Estado	TAMAULIPAS				VERACRUZ		CAMPECHE					YUCATÁN		
	Playa	Rancho Nuevo	Farallón	Coyotes	El Llano	GLOBAL %	I.del Carmen	Isla Aguada	LaEsc/Sabancuy	Chenkán	Cayo Arcas	GLOBAL %	El Cuyo	Alacranes	GLOBAL %
	Temporada	'05	'05	'05 y '06	'05 y '06		'06	'05 y '06	'06	'06	'06		'05 y '06	'06	
CM-A1.1		68	73	92	82	85							3	17	9
CM-A1.2													3		2
CM-A3		24	27	3	18	13	100	86	79	75	64	83	85	48	70
CM-A5											7	1		13	5
CM-A18.1				6		2		14	21	25		14			
CM-A18.2													9		5
CM-A27														22	9
CM-A47											29	3			
CM-A58		8													
N		25	11	36	51	98	9	98	29	4	14	154	33	23	56

7.2. Patrones evolutivos de los genes.

7.2.1. Reconstrucción de redes haplotípicas.

La información para el contexto de este estudio, requiere abordar las relaciones genealógicas de los haplotipos encontrados, tanto en las poblaciones aquí analizadas como dentro del resto de las colonias de la especie en la cuenca oceánica. Lo hicimos a través de un diagrama TCS que nos permite una reconstrucción de la historia evolutiva más parsimoniosa con una confianza del 95% (Templeton, 1992) de las secuencias y de esta manera correlacionar con procesos evolutivos que podrían haber contribuido a la estructura actual, tales como barreras geográficas, aislamiento por distancia, flujo génico, etc. (Templeton y Sing, 1993; Templeton *et al.*, 1995; Posada *et al.*, 2000, en Delgado *et al.*, 2002). Posteriormente, al comparar los patrones de diferenciación generado por este análisis con la ubicación geográfica de las colonias estudiadas, ayuda a distinguir entre hipótesis sobre el origen evolutivo de las poblaciones.

En la Figura 3 se observa la relación y ubicación evolutiva de los haplotipos encontrados en las poblaciones del golfo de México con el resto de los reportados para las colonias del Atlántico. Se advierten dos grupos de haplotipos o linajes principales (A y B), con el haplotipo CM-A8 (B), el más ampliamente distribuido y representado en las colonias del Atlántico Sur Central, en el lugar central de toda la red de haplotipos. Esto sugiere que es el haplotipo más ancestral y que de él originaron los demás. En el linaje A se encuentra la mayoría de los haplotipos registrados en el Gran Caribe, pero además, los haplotipos CM-A13 y CM-A14 presentes sólo en Chipre, que indica que esta colonia pertenece al mismo linaje que las poblaciones del Atlántico Occidental y que posiblemente su origen sea de allí y no localmente en el Mediterráneo. Dentro de este mismo clado, observamos que los dos haplotipos más frecuentes en las colonias mexicanas (CM-A1 y CM-A3) se encuentran como centros de diferenciación, cada uno asociado por una sola diferencia a más de 2 otros haplotipos que han sido encontrados en las poblaciones mexicanas, incluyendo algunos de los reportados por Encalada *et al.* (1996) en su estudio. El nuevo haplotipo CM-A58 se encuentra unido a los haplotipos CM-A1 y CM-A15, diferenciado de cada uno por una sola mutación (T > C y C > T), en los sitios 172 y 81, respectivamente, a partir del inicio de la región control. La existencia de este haplotipo hace pensar que en un momento de la historia evolutiva de *C. mydas* se originó esta mutación que apenas empieza a hacerse manifiesta, y entonces

la baja frecuencia con que se presenta ($n=2$) en la población de Rancho Nuevo, Tamaulipas, no sólo pudiese estar relacionada al tamaño total de la muestra ($n=25$), sino a una mutación reciente. En cuanto a los haplotipos CM-A47 y CM-A27, que por primera vez se tiene conocimiento de su existencia en tortugas de playas de anidación del golfo de México, el primero de ellos, diferenciado del A3 (el haplotipo predominante en la zona oriental del golfo de México) por una transición ($G > A$) en el sitio 361, se cree que puede existir en sitios de agregación (Bjorndal *et al.*, sin publicar) pero su origen no se conocía, en tanto que el CM-A27 es uno de los haplotipos cuyo origen se desconocía y sólo había sido visto en individuos en un sitio de alimentación de Carolina del Norte (Bass *et al.*, 2006).

Se observó que el haplotipo CM-A5, encontrado en proporciones elevadas en las colonias del Caribe Oriental (Costa Rica, Aves y Surinam), pertenece al linaje del Atlántico Sur ubicado como centro de diferenciación de siete haplotipos, entre ellos el CM-A20, CM-A21 y CM-A7, reportados en la colonia de Costa Rica los primeros dos, y en Aves y Surinam el último. Esto sugiere que el origen de este haplotipo ocurrió en el Gran Caribe y muy probablemente que Costa Rica, en donde se ha encontrado en una mayor abundancia, sea la fuente original. De allí podría haberse dispersado por introgresión reciente a latitudes más elevadas, ya que fue reportado en Quintana Roo por Encalada *et al.* (1996) y en este estudio en las colonias de cayo Arcas y Alacranes.

Dentro de la red haplotípica fueron evidentes 12 ambigüedades representadas por anillos (“loops”) o lazos alternativos que unen haplotipos distantes en círculos sin ofrecer una solución unitaria al proceso evolutivo (letras rojas A-J en la Figura 3a). Se buscó resolverlos para tener un mayor entendimiento de los procesos evolutivos, basándonos en los tres criterios propuestos por Pfenninger y Posada (2002) para este mismo fin: (1) frecuencia, los haplotipos tienden a conectarse más con los haplotipos más comunes que con aquellos que aparecen en baja proporción; (2) criterio topológico, los haplotipos se conectan más a aquellos ubicados en el interior de la red que a los externos; y (3) criterio geográfico, establece que los haplotipos se conectan más a aquellos de la misma región o población que a los haplotipos que ocurren en poblaciones distantes. De acuerdo a las características de las ambigüedades encontradas, en algunos casos no fue posible aplicar un solo criterio (Figura 3b). En el anillo A, el haplotipo CM-A42 quedó finalmente unido al -A8 usando los 3 criterios, separándose del -A25; en B, C y D, los haplotipos CM-A39, -A49 y -A35, respectivamente, conservan su unión con el CM-A6 considerando que la frecuencia de este último es

mayor a pesar de que ellos, junto con los haplotipos involucrados en estas ambigüedades, pertenecen a la misma región; en F, se rompe el enlace entre los haplotipos CM-A9 y -A44 quedando unidos a -A8 considerando los criterios de frecuencias y el topológico. Con respecto de los 4 haplotipos involucrados en la unión de ambos linajes (E y G), el criterio seleccionado fue el de frecuencias, siendo los haplotipos CM-A9 y -A18 los que tienen una mayor representatividad. En el clado A, se utilizaron los dos primeros criterios para separar los haplotipos CM-A52 (H), y -A56 y -A57 (J), de los haplotipos CM-A26 y -A1, respectivamente, conservando en ambos casos la unión al CM-A3 por tener éste una mayor frecuencia y ser un haplotipo interno. El anillo formado entre los haplotipos CM-A1, -A58, -A15 y -A3 (I) no fue separado para poder tener un panorama completo de las relaciones entre el nuevo haplotipo CM-A58 con respecto de, por un lado, los dos más abundantes del Caribe Occidental y, por otro lado, un haplotipo que únicamente ha sido encontrado en Quintana Roo y con quien tiene menos diferencias nucleotídicas. Finalmente, para separar el conjunto de haplotipos ubicados entre el CM-A3 y el -A27 (anillos K y L), se consideró que el haplotipo CM-A3 es el más abundante en la región sur del Caribe Occidental, que es donde se han localizado la mayoría de ese grupo (excepto el CM-A13 y -A14 reportados en Chipre) por lo que se decidió dejarlos hacia ese extremo.

Este análisis también se realizó incorporando secuencias de dos grupos externos para identificar con mayor precisión dónde se ubica el haplotipo más ancestral de los reportados para la especie en el Atlántico. Para esto se incluyeron dos secuencias; una de *C. mydas* pero de poblaciones del Pacífico y la segunda de *Caretta caretta*. Sin embargo, en esta reconstrucción TCS estos dos haplotipos quedan desvinculados de los 57 haplotipos de las poblaciones del Atlántico de *C. mydas* (diagrama no mostrado), indicando una evolución independiente que no puede ser resuelta con esta metodología.

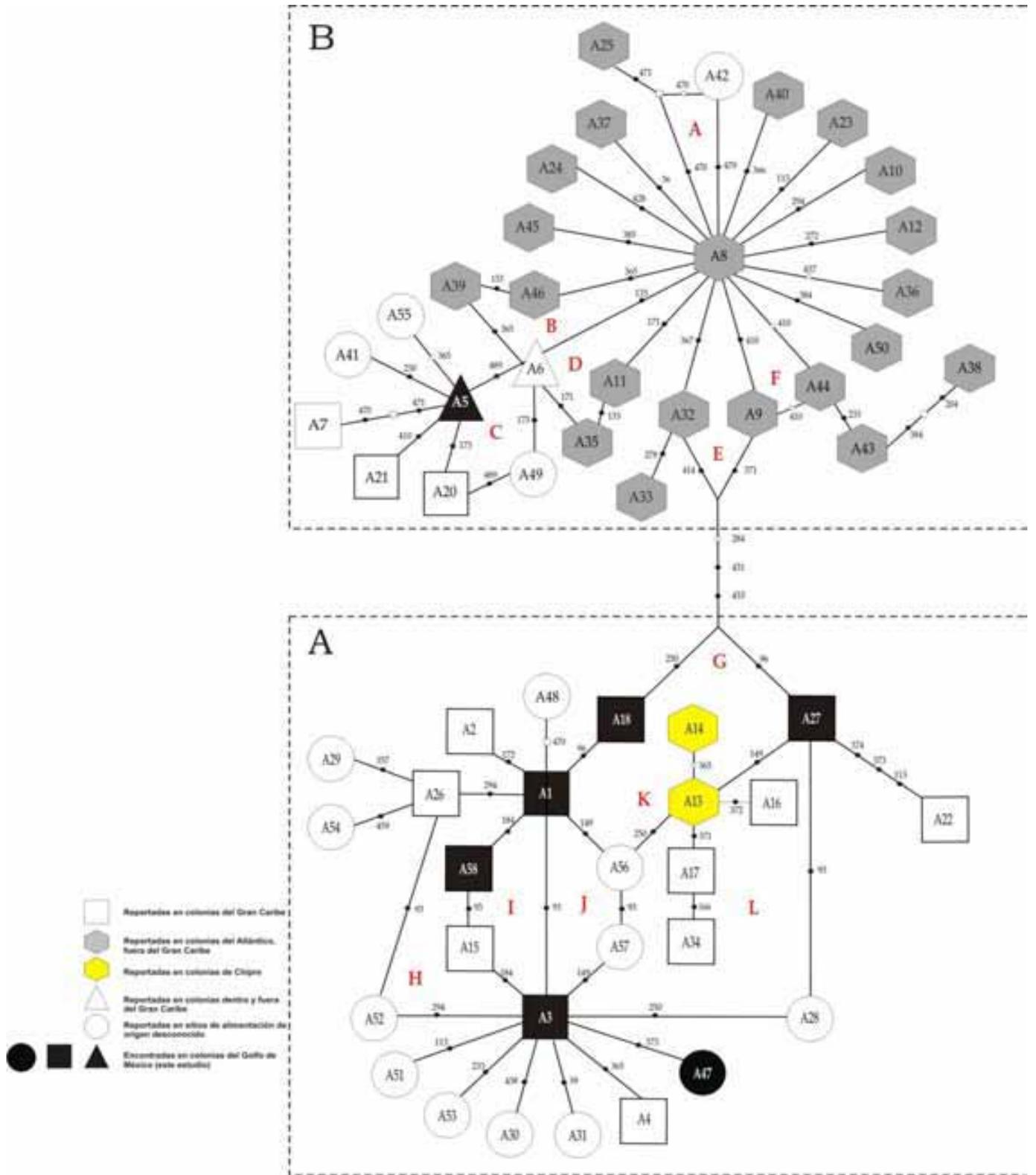


Figura 3a. Reconstrucción de las relaciones evolutivas entre haplotipos de la tortuga verde en el Atlántico y Mediterráneo a través del proceso TCS basado en una parsimonia del 95%. La designación de los dos linajes A (Gran Caribe y Mediterráneo) y B (Atlántico Centro y Sur) fue basado en Encalada *et al.* (1996). En letras rojas se presenta la ubicación de los anillos que generaron ambigüedades en el análisis. En las uniones entre haplotipos se muestra la posición y el tipo de cambio detectado, donde

---●--- transiciones; ---○--- transversiones; ---□--- inserción de > 2 bps.

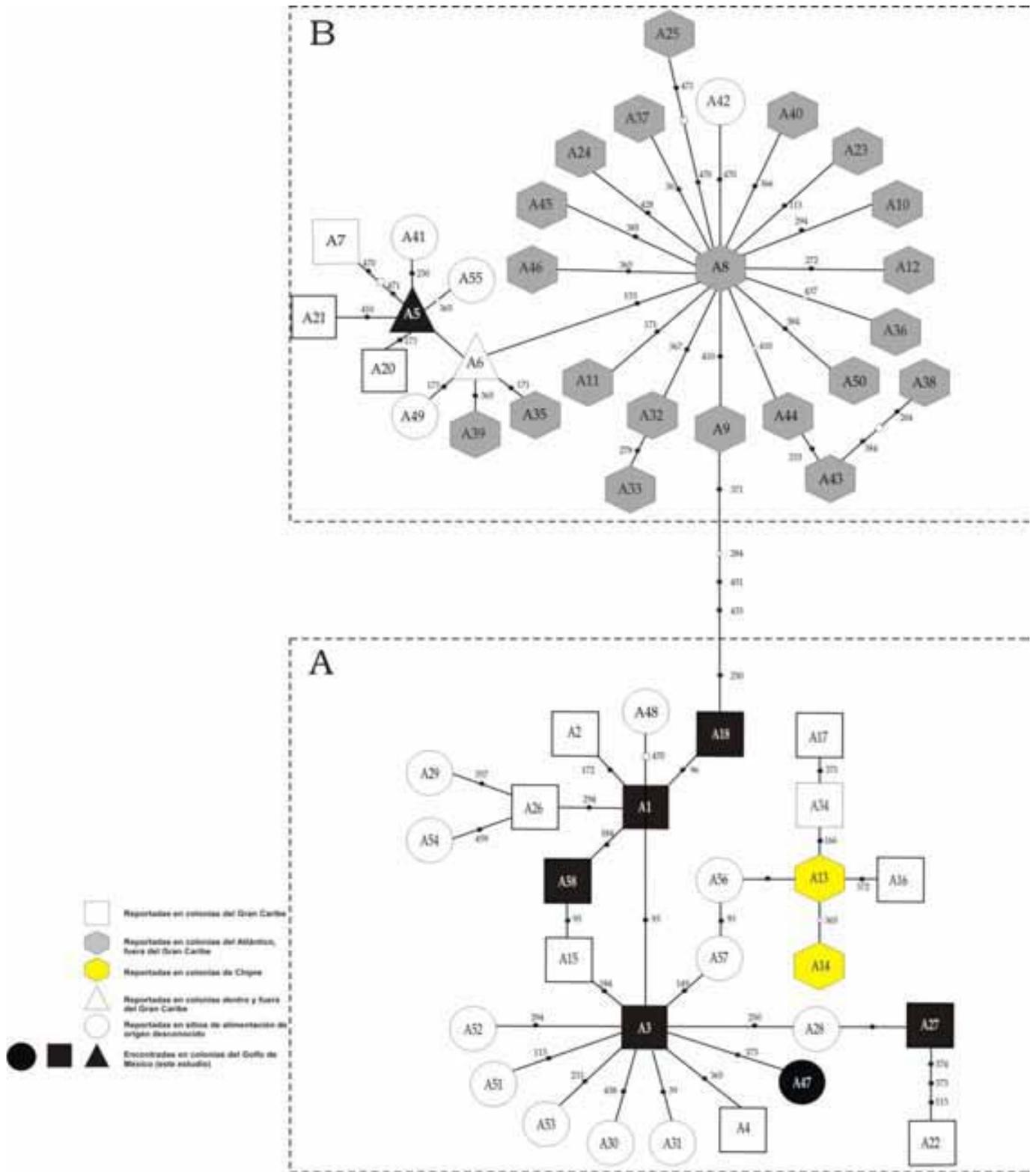


Figura 3b. Reconstrucción final de las relaciones evolutivas entre haplotipos de la tortuga verde en el Atlántico y Mediterráneo a través del proceso TCS, rompiendo los doce anillos identificados en la Figura 3a. En las uniones entre haplotipos se muestra la posición y el tipo de cambio detectado, donde ---●--- transiciones; ---○--- transversiones; ---□--- inserción de > 2 bps.

7.2.2. Modelos filogenéticos para los haplotipos.

De acuerdo al programa MODELTEST (Posada *et al.*, 1998), el modelo de evolución idóneo para el segmento analizado de la región control (488 pb) para los haplotipos reportados en colonias de anidación de *C. mydas* en la cuenca Atlántica, y que describa las diferentes probabilidades de cambio de un nucleótido a otro (Posada, 2003) fue el K81uf+1 (Kimura 3-parámetros tomando en cuenta sitios invariables y frecuencias de bases desiguales), seleccionado bajo el criterio de información de Akaike (AIC=2180.36). El segundo modelo alternativo derivado bajo este mismo criterio, fue TIM+I+G (Modelo transicional considerando tanto los sitios invariables como la corrección Gamma) con un AIC=2180.87. En los análisis subsecuentes se tomó el primer modelo sugerido como base para las comparaciones.

El motivo por el cual se decidió usar el criterio estadístico de Akaike, AIC, y no el hLRT (hierarchical Likelihood Ratio Test, segundo criterio implementado en el programa) es que, para nuestros propósitos, ese criterio presenta la ventaja de comparar simultáneamente entre varios modelos candidatos para el conjunto de secuencias, en tanto que el hLRT sólo lo hace entre pares de modelos (Posada, 2003).

Las características del modelo K81uf+1 se implementaron en el programa PAUP para obtener la matriz de distancias entre todas las secuencias incluyendo los dos grupos externos considerados en la reconstrucción del diagrama TCS. Su empleo en este análisis, se hizo con el propósito de que fuesen lo suficientemente cercanos a tortuga verde, de tal forma que describan los patrones de ancestría de la especie con el objetivo de visualizar posición de la raíz en el dendrograma y dimensionar las escalas de diferenciación entre haplotipos. Los valores de distancias genéticas se aplicaron en MEGA para obtener el árbol enraizado (Figura 4) bajo el algoritmo del vecino más cercano (Neighbor Joining-NJ).

El árbol filogenético derivado de este análisis coincide perfectamente con la red TCS en la presencia de los dos linajes anteriormente descritos. En ambos diagramas concuerda la proximidad del nuevo haplotipo registrado en la población de Rancho Nuevo, el CM-A58, con el haplotipo CM-A15 encontrado por Encalada *et al.* (1996) en Quintana Roo. En el mismo grupo donde se ubican estos dos haplotipos, en el dendrograma NJ, en la base se encuentra el haplotipo CM-A3 demostrando, como en el diagrama TCS, que de él surgieron los demás diferenciándose por 1 ó 2 sustituciones, pudiendo ser el más ancestral en el linaje del Gran Caribe, derivándose también de él el

haplotipo CM-A1, el segundo más representado de ese linaje evolutivo. En este mismo linaje pero en un grupo separado, se observan, en ambos diagramas, los haplotipos presentes en Chipre (CM-A13 y CM-A14) junto a los reportados en Quintana Roo (CM-A16 y CM-A17; Encalada *et al.*, 1996), abriendo a discusión el verdadero origen de esos dos haplotipos del Mediterráneo. En tanto que en el conjunto de haplotipos representando al linaje del Atlántico Sur, se observa la presencia del haplotipo CM-A5 junto a otros haplotipos encontrados en las colonias del Gran Caribe Oriental, clara señal de una migración desde esa parte del Atlántico hacia el Gran Caribe, lo cual explica su distribución clinal cuya abundancia se manifiesta en las colonias de Aves, Surinam y Costa Rica, disminuyendo a mayores latitudes.

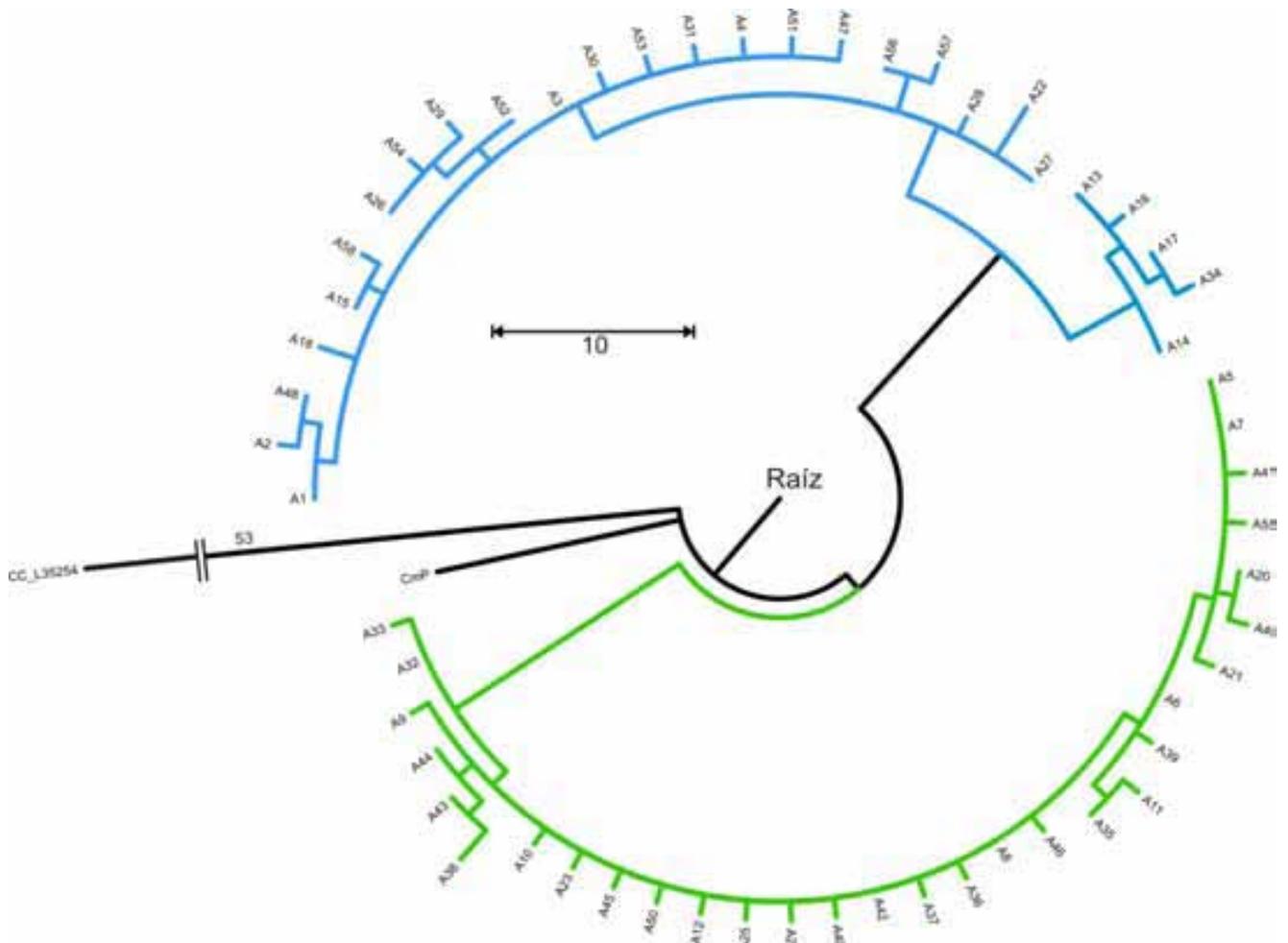


Figura 4. Árbol enraizado de los haplotipos identificados para *C. mydas* en el golfo de México, Atlántico y Mediterráneo, bajo el algoritmo Neighbor-Joining (NJ), usando como dos grupos externos un haplotipo de *C. caretta* (CC_L35254) y otro de *C. mydas* del Pacífico (CmP). Las longitudes de las ramificaciones son proporcionales a las distancias genéticas entre los haplotipos basadas en el modelo K81uf+1.

7.3. Diferenciación interpoblacional.

7.3.1. Análisis de diferenciación interpoblacional: pruebas de diferenciación.

La determinación de la diferenciación genética entre las poblaciones está asociada a dos principales propósitos: (1) el identificar aquellas poblaciones o grupos de poblaciones que manifiestan entre sí homogeneidad genética, y que se podría suponer mantienen niveles de flujo génico entre sí, para identificarlas como unidades de manejo independientes; esta identificación es primordialmente importante para fines de manejo y conservación, ya que se busca aplicar estrategias específicas para unidades reproductivamente aisladas, y (2) dar seguimiento a los patrones de estructuración geográfica de la variación genética para un mayor entendimiento de la evolución de la especie en la región.

Para el proceso de identificación de las Unidades de Manejo, las pruebas de diferenciación se aplicaron bajo dos vertientes: (1) basándonos únicamente en frecuencias haplotípicas (F_{ST} convencional), y (2) considerando las distancias entre las secuencias bajo el modelo propuesto por MODELTEST. Debido a que para el grueso de los análisis se utiliza el programa Arlequín y existe en ésta las limitantes en el número de modelos de distancia genética que calcula, se buscó el modelo de sustitución nucleotídica cuyas características coincidieran con el K81uf+1. Éste fue el modelo de Tamura (Tamura, 1992; Kumar *et al.*, 1993), que es una extensión del modelo Kimura 2-Parámetros (Kimura, 1980; Jin y Nei, 1990), tomando en cuenta que las frecuencias de los nucleótidos son desiguales, lo mismo que la tasa de transiciones/transversiones, sin considerar la corrección Gamma.

Idealmente la detección de grupos de poblaciones genéticamente homogéneas (sin diferencias significativas) se podría realizar con ambos parámetros y, de serlo así, tendríamos una mayor robustez para el conjunto de datos de las colonias del golfo de México. Por otro lado, cuando existen diferencias en los resultados, el contraste entre F_{ST} y Φ_{ST} ayuda a esclarecer el tipo de aislamiento que se ha dado entre las poblaciones. Valores de $F_{ST} = \Phi_{ST}$ demuestra que se trata de poblaciones aisladas a partir de una población homogénea; cuando los valores de F_{ST} son mayores a los de Φ_{ST} se trata de poblaciones con interrupción reciente de flujo génico; y cuando los valores de Φ_{ST} son

mayores a los de F_{ST} estamos hablando de flujo génico reciente entre poblaciones antiguamente aisladas (Medrano-González, 2006).

7.4. Variación temporal dentro de poblaciones

El análisis sobre variación temporal dentro de poblaciones enfoca la pregunta sobre posibles diferencias genéticas entre los grupos de reproductores que anidan en dos temporadas (2005 y 2006) seguidas. El comparar la composición genética entre reproductores de dos años seguidos de anidación permitiría comparar individuos distintos y además indagar sobre la posibilidad de que las fluctuaciones en abundancia estén relacionadas con poblaciones genéticamente diferenciadas.

Dado a que el muestreo para el año 2005 fue limitado por causas de los huracanes, contábamos con la posibilidad de esta evaluación solamente para colonias con adecuado tamaño de muestreo en ambas temporadas: El Llano y Coyotes en Veracruz; Isla Aguada en Campeche, y El Cuyo en Yucatán (Tabla 3). Para el caso de El Cuyo (Yucatán), ya se tenían secuenciadas la totalidad de las muestras y el análisis de diferenciación mostraba que no hay diferencias significativas (valor de la prueba; $P=0.56$ con el estadístico F_{ST} convencional) entre los dos años, por lo que se habían agrupado desde semestres anteriores (datos no mostrados). El resultado, aplicando los dos métodos de diferenciación, no dio diferencias significativas (con F_{ST} convencional: $P=1$ y $P=0.687$; con método de Tamura: $P=1$ y $P=0.292$. Tablas 5 y 6) entre temporadas tanto para El Llano como para Coyotes, respectivamente, aunque llama la atención la presencia del haplotipos CM-A18 en Coyotes en el 2006 que no se presentó en el 2005. En cambio para Isla Aguada las diferencias si son significativas ($P=0.039$). Para los análisis subsecuentes se decidió agrupar los resultados de las dos colonias de El Llano y Coyotes y de ambas temporadas en una sola población (Lechuguillas), considerando además que las separa una distancia de apenas 8 km. La agrupación de las dos temporadas también se hizo para Isla Aguada apoyándonos en el mismo criterio y a la vez en que los trabajos de marca/recaptura usando marcas metálicas indican intercambio entre playas de Campeche. Sin embargo en Isla Aguada si se mostraron diferencias significativas entre las muestras de las dos temporadas causadas por un valor relativamente bajo en la frecuencia del haplotipo CM-A18.1 en el 2005 comparado con la del 2006 (detalles en Tabla 3). Los posibles escenarios para explicar esta variación temporal se discuten más adelante. Sin embargo, considerando que no pudimos

confirmar cambios genéticos inter-anales en otras playas en nuestro estudio, y que en otros estudios (por ejemplo I. Ascensión; Formia *et al.*, 2007) no se han detectado variaciones inter-anales y las que se reportaron han sido causadas por tamaños muestrales pequeños (Formia *et al.*, 2007) se optó por combinar los muestreos de ambos años para Isla Aguada para los análisis subsecuentes toda vez que su perfil haplotípico está conformado por los dos haplotipos característicos de la región (CM-A3 y CM-A18). Adicionalmente, se conoce (1) la ocurrencia de una porción aunque pequeña de hembras que regresan en un año (V. Guzmán, com. pers.) y (2) que por la distribución de las frecuencias de remigración deben producirse mezclas de cohorte de reproductores entre años pares y nones. Por esto resultaría contradictorio el encontrar una diferenciación genética entre años.

Tabla 5. Debajo de la diagonal, valores de F_{ST} convencional (Wright, 1951) basados en frecuencias haplotípicas entre pares de poblaciones de *C. mydas* del golfo de México separados por temporadas; encima de la diagonal, valores de probabilidad estadística, en rojo los no significativos tomando como límite un nivel de significancia de 0.05.

	RN	Far	Lla'05	Lla'06	Coy'05	Coy'06	I.Car	I.Ag'05	I.Ag'06	Sab	Chen	C.Arc	Cuyo	Alac
R.Nuevo		1.000	0.393	0.371	0.150	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.001
Farallón	-0.059		0.657	0.663	0.289	0.052	0.001	0.000	0.000	0.000	0.027	0.001	0.000	0.008
Llano'05	-0.007	-0.047		1.000	0.627	0.226	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000
Llano'06	0.005	-0.034	-0.041		0.655	0.126	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
Coyotes'05	0.070	0.064	-0.009	-0.012		0.687	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000
Coyotes'06	0.122	0.135	0.054	0.049	-0.016		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
I.Carmen	0.572	0.675	0.743	0.744	0.906	0.879		1.000	0.184	0.308	0.316	0.118	0.439	0.015
I.Aguada'05	0.657	0.732	0.775	0.773	0.865	0.862	-0.029		0.039	0.072	0.297	0.001	0.264	0.000
I.Aguada'06	0.497	0.521	0.609	0.621	0.693	0.707	0.087	0.078		1.000	1.000	0.031	0.217	0.001
Sabancuy	0.489	0.522	0.618	0.632	0.716	0.729	0.082	0.070	-0.027		1.000	0.027	0.375	0.001
Chenkán	0.396	0.425	0.588	0.611	0.758	0.759	0.217	0.100	-0.153	-0.159		0.538	1.000	0.314
C.Arcas	0.394	0.405	0.536	0.561	0.643	0.675	0.187	0.273	0.132	0.120	-0.010		0.017	0.053
El Cuyo	0.501	0.543	0.634	0.645	0.738	0.751	0.008	0.008	0.014	0.001	-0.081	0.130		0.001
Alacranes	0.219	0.209	0.336	0.365	0.427	0.473	0.216	0.320	0.182	0.164	0.022	0.082	0.173	

Tabla 6. Debajo de la diagonal, valores de Φ_{ST} basados en distancias genéticas mediante el método de Tamura (Tamura, 1992; Kumar *et al.*, 1993) entre pares de poblaciones de *C. mydas* del golfo de México separados por temporadas; encima de la diagonal, valores de probabilidad estadística, en rojo los no significativos tomando como límite un nivel de significancia de 0.05.

	RN	Far	Lla'05	Lla'06	Coy'05	Coy'06	I.Car	I.Ag'05	I.Ag'06	Sab	Chen	C.Arcas	Cuyo	Alac
R.Nuevo		0.864	0.600	0.443	0.168	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.002
Farallón	-0.053		0.659	0.655	0.290	0.020	0.002	0.000	0.003	0.003	0.114	0.000	0.001	0.072
Llano'05	-0.020	-0.047		1.000	0.628	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004	0.000	0.000	0.003
Llano'06	-0.010	-0.034	-0.041		0.645	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000
Coyotes'05	0.031	0.064	-0.009	-0.012		0.292	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.027
Coyotes'06	0.134	0.202	0.111	0.104	0.024		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
I.Carmen	0.581	0.675	0.743	0.744	0.906	0.888		1.000	0.186	0.305	0.311	0.324	0.409	0.033
I.Aguada'05	0.589	0.611	0.684	0.691	0.773	0.799	-0.029		0.045	0.078	0.276	0.017	0.351	0.000
I.Aguada'06	0.336	0.290	0.398	0.420	0.472	0.528	0.087	0.078		1.000	1.000	0.017	0.250	0.001
Sabancuy	0.351	0.308	0.430	0.457	0.512	0.574	0.082	0.070	-0.027		1.000	0.034	0.380	0.002
Chenkán	0.294	0.254	0.450	0.486	0.609	0.664	0.217	0.100	-0.153	-0.159		0.463	0.866	0.368
C.Arcas	0.352	0.265	0.407	0.449	0.436	0.529	0.021	0.137	0.114	0.087	-0.056		0.021	0.058
El Cuyo	0.435	0.418	0.531	0.550	0.628	0.681	0.019	0.002	0.011	-0.002	-0.073	0.090		0.000
Alacranes	0.131	0.068	0.142	0.169	0.142	0.202	0.147	0.280	0.177	0.145	-0.024	0.088	0.185	

7.5. Identificación de Unidades de manejo.

Una vez que se hicieron estas agrupaciones, de 231 combinaciones posibles entre todas las colonias de anidación de *C. mydas* en el Atlántico, 31 de ellas resultaron no significativas ($P > 0.05$) usando como parámetro el estadístico F_{ST} ; mientras que con el Φ_{ST} fueron 33 combinaciones cuyas diferencias fueron no significativas (Tablas 7 y 8). Entre las consistencias generadas con ambos estadísticos y para las poblaciones del golfo de México, notamos que no se observan diferencias significativas entre las tres colonias de Veracruz (Farallón y El Llano y Coyotes, Lechuguillas) con Rancho Nuevo, Tamaulipas. Por otro lado, tampoco hay diferencias significativas entre todas las poblaciones de Campeche, exceptuando cayo Arcas, con El Cuyo, Yucatán. El hecho de que a las colonias de Chenkán e Isla del Carmen se les agrupe con colonias muy distantes como Quintana Roo (usando los datos disponibles de Encalada *et al.*, 1996) y Costa Rica, respectivamente, sugiere que hay problemas con el tamaño de muestra (Chenkán=4; Isla del Carmen=9) y por compartir haplotipos en alta frecuencia se asocian de manera espuria con un número de poblaciones de la región. Tomando en cuenta la ubicación geográfica, sin embargo, para los análisis posteriores, incluyendo la correlación entre los dos estadísticos para ilustrar el tipo de aislamiento que se ha dado entre las poblaciones, se decidió agrupar los datos con las colonias más próximas; los de Sabancuy con los de Chenkán (Sb-Che) y los de Isla del Carmen con los de Isla Aguada (IC-IA), en ambos casos además de por su proximidad geográfica, por las frecuencias absolutas de su composición haplotípica, y porque no mostraron diferencias significativas bajo ninguno de los dos métodos.

Tabla 7. Debajo de la diagonal, valores de F_{ST} convencional (Wright, 1951) basados en frecuencias haplotípicas entre pares de poblaciones de *C. mydas* del Gran Caribe, Atlántico y Mediterráneo; encima de la diagonal, valores de probabilidad estadística, en rojo los no significativos tomando como límite un nivel de significancia de 0.05.

	Flor	RN	Far	Lech	IC	IA	Sab	Chen	Cuyo	C.Arc	Alac.	QR/Enc	CR	Sur	Aves	A.Rocas	I.Trind	G.Bissau	I.Bioko	I.Asc.	S. Tome		
Florida		0.087	0.224	0.000	0.010	0.000	0.000	0.156	0.001	0.009	0.061	0.121	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
R.Nuevo Farallón	0.072		1.000	0.041	0.000	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.001	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Lech	0.051	-0.059		0.312	0.002	0.000	0.000	0.027	0.000	0.001	0.007	0.105	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
I.Carmen	0.322	0.063	0.030		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
I.Aguada	0.323	0.572	0.675	0.769		0.361	0.299	0.312	0.424	0.116	0.014	0.001	0.681	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Sabancuy	0.358	0.591	0.620	0.725	0.028		0.571	1.000	0.502	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Chenkán	0.259	0.489	0.522	0.695	0.082	-0.007		1.000	0.388	0.030	0.001	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
El Cuyo	0.136	0.396	0.425	0.690	0.217	-0.093	-0.159		1.000	0.541	0.314	0.149	0.089	0.001	0.001	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
C.Arcas	0.248	0.501	0.543	0.698	0.008	-0.008	0.001	-0.081		0.016	0.001	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Alacranes	0.188	0.394	0.405	0.656	0.187	0.187	0.120	-0.010	0.130		0.055	0.002	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
QR/Enc	0.069	0.219	0.209	0.489	0.216	0.266	0.164	0.022	0.173	0.082		0.047	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Costa Rica	0.038	0.072	0.059	0.295	0.355	0.418	0.270	0.098	0.308	0.181	0.064		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Sur	0.509	0.718	0.733	0.797	-0.016	0.067	0.135	0.133	0.043	0.289	0.408	0.607		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Aves	0.568	0.605	0.664	0.752	0.841	0.751	0.692	0.683	0.730	0.579	0.429	0.418	0.815		0.482	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
A.Rocas	0.621	0.662	0.728	0.770	0.846	0.749	0.715	0.741	0.745	0.636	0.487	0.499	0.803	-0.002		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
I.Trind	0.463	0.491	0.506	0.639	0.614	0.643	0.555	0.485	0.584	0.474	0.403	0.360	0.767	0.566	0.617		0.260	0.000	0.001	0.003	0.187		
G.Bissau	0.476	0.499	0.514	0.619	0.607	0.624	0.552	0.496	0.575	0.485	0.423	0.384	0.747	0.564	0.601	0.004		0.000	0.000	0.000	0.093		
I.Bioko	0.838	0.856	0.935	0.865	1.000	0.858	0.895	0.975	0.908	0.897	0.793	0.775	0.867	0.953	0.943	0.218	0.191		0.012	0.001	0.000		
I.Asc.	0.675	0.700	0.755	0.779	0.851	0.776	0.755	0.775	0.778	0.715	0.618	0.586	0.834	0.795	0.815	0.094	0.102	0.102		0.148	0.015		
Sao Tome	0.635	0.652	0.670	0.712	0.736	0.713	0.686	0.667	0.700	0.648	0.597	0.569	0.779	0.701	0.718	0.050	0.065	0.057	0.008		0.026		
Chipre	0.428	0.464	0.477	0.658	0.626	0.661	0.552	0.440	0.594	0.434	0.348	0.298	0.778	0.543	0.625	0.014	0.032	0.352	0.098	0.055			
	0.688	0.718	0.807	0.801	0.943	0.797	0.786	0.861	0.813	0.749	0.621	0.585	0.848	0.855	0.865	0.650	0.627	0.979	0.855	0.737	0.694		

Tabla 8. Debajo de la diagonal, valores de ϕ_{ST} basados en distancias genéticas mediante el método de Tamura (Tamura, 1992; Kumar *et al.*, 1993) entre pares de poblaciones de *C. mydas* del Gran Caribe, Atlántico y Mediterráneo; encima de la diagonal, valores de probabilidad estadística, en rojo los no significativos tomando como límite un nivel de significancia de 0.05.

	Fl	RN	Far	Lech	IC	IA	Sab	Chen	Cuyo	C.Arc	Alac.	QR/Enc	CR	Sur	Aves	A.Rocas	I.Trind	G.Bissau	I.Bioko	I.Asc.	S. Tome
Florida		0.051	0.273	0.000	0.012	0.001	0.012	0.237	0.004	0.001	0.015	0.022	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
R.Nuevo Farallón	0.085		0.857	0.060	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.000	0.002	0.036	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Lech	0.029	-0.053		0.215	0.001	0.001	0.004	0.111	0.000	0.001	0.075	0.362	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
I.Carmen	0.326	0.581	0.675	0.770		0.368	0.298	0.301	0.408	0.330	0.031	0.003	0.613	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
I.Aguada	0.208	0.440	0.407	0.595	0.028		0.557	1.000	0.648	0.018	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Sabancuy	0.140	0.351	0.308	0.576	0.082	-0.007		1.000	0.373	0.033	0.003	0.001	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Chenkán	0.046	0.294	0.254	0.602	0.217	-0.093	-0.159		0.861	0.468	0.367	0.397	0.309	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
El Cuyo	0.182	0.435	0.418	0.640	0.019	-0.015	-0.002	-0.073		0.023	0.001	0.000	0.152	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
C.Arcas	0.190	0.352	0.265	0.621	0.021	0.137	0.087	-0.056	0.090		0.061	0.002	0.101	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Alacranes	0.098	0.131	0.068	0.313	0.147	0.278	0.145	-0.024	0.185	0.088		0.291	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
QR/Enc	0.071	0.050	0.006	0.175	0.217	0.319	0.165	-0.019	0.231	0.156	0.005		0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Costa Rica	0.117	0.246	0.207	0.339	-0.012	0.036	0.035	-0.061	0.022	0.016	0.132	0.204		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Sur	0.956	0.959	0.972	0.975	0.992	0.955	0.949	0.970	0.965	0.898	0.782	0.837	0.848		0.532	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Aves	0.850	0.853	0.828	0.917	0.846	0.905	0.853	0.799	0.873	0.786	0.689	0.742	0.812	0.020		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
A.Rocas	0.925	0.926	0.927	0.949	0.942	0.934	0.922	0.922	0.935	0.892	0.799	0.841	0.820	0.801	0.617		0.064	0.000	0.000	0.000	0.005
I.Trind	0.921	0.921	0.921	0.939	0.934	0.929	0.919	0.918	0.929	0.900	0.828	0.861	0.824	0.782	0.654	0.018		0.000	0.001	0.000	0.002
G.Bissau	0.980	0.981	0.992	0.981	1.000	0.963	0.974	0.994	0.982	0.959	0.881	0.917	0.836	0.988	0.750	0.092	0.102		0.010	0.044	0.000
I.Bioko	0.959	0.960	0.969	0.969	0.981	0.951	0.953	0.969	0.964	0.929	0.835	0.878	0.829	0.907	0.647	0.077	0.093	0.102		0.109	0.026
I.Asc.	0.954	0.953	0.955	0.957	0.962	0.952	0.952	0.955	0.957	0.945	0.907	0.926	0.861	0.848	0.768	0.044	0.069	0.011	0.009		0.001
Sao Tome	0.882	0.884	0.867	0.938	0.888	0.921	0.881	0.836	0.904	0.811	0.696	0.750	0.814	0.631	0.438	0.069	0.093	0.167	0.059	0.106	
Chipre	0.872	0.873	0.920	0.905	0.981	0.871	0.871	0.937	0.907	0.801	0.552	0.569	0.649	0.989	0.878	0.944	0.932	0.997	0.980	0.958	0.914

En la Figura 5, y abarcando sólo la región del golfo de México, se observa la correspondencia entre los valores de F_{ST} convencional y el Φ_{ST} calculado bajo el modelo de Tamura. Se presentan valores más altos de Φ_{ST} entre las poblaciones de Cayo Arcas, El Cuyo e IC-IA con respecto a Alacranes; y de Lechuguillas con respecto a Farallón. Esto indica flujo génico reciente entre poblaciones anteriormente aisladas. Entre las poblaciones de Farallón con Rancho Nuevo, y entre IC-IA con respecto a Sb-Che, en todos los casos muy cercanos a cero, hay una igualdad entre los valores de ambos estadísticos, que revela que son poblaciones aisladas a partir de una población homogénea, probablemente debido a su cercanía geográfica. El resto de las comparaciones entre pares de poblaciones, revelaron una interrupción reciente de flujo génico, es decir, valores más altos de F_{ST} que de Φ_{ST} .

El mismo análisis se realizó incorporando las colonias restantes que conforman el Gran Caribe (desde Florida hasta Surinam). En la Figura 6 se ven (color rojo) aquellas comparaciones cuyos valores de Φ_{ST} son más altos que los de F_{ST} , agrupando en el círculo aquellas cuya diferencia es $\gg 0.1$, siendo éstas principalmente las comparaciones entre las colonias de Aves y Surinam, y el resto de poblaciones del Gran Caribe, y excluyendo los que tienen una diferencia mínima entre los dos parámetros. Por encima de la diagonal se hallan las comparaciones cuyos valores de F_{ST} fueron más altos que los de Φ_{ST} , siendo éstas la gran mayoría y básicamente entre colonias del Caribe Occidental (desde Florida hasta Costa Rica). Con esto, podemos dar cuenta que al incorporar poblaciones cuya composición incluye en alta frecuencia haplotipos pertenecientes a diferentes linajes (p. ej. Caribe + Atlántico Sur), los valores de Φ_{ST} aumentan ya que se está tomando en cuenta altos valores de distancia genética interhaplotípica (diferencias con base a la composición nucleotídica); en tanto que comparaciones entre poblaciones cuyo mayor porcentaje de haplotipos son del mismo linaje (p. ej. del Caribe Occidental), los valores de F_{ST} son más altos, porque sólo se contempla la frecuencia de los haplotipos y la diferenciación interpoblacional a este nivel geográfico se da justamente en cambios de frecuencia sin mutaciones nuevas.

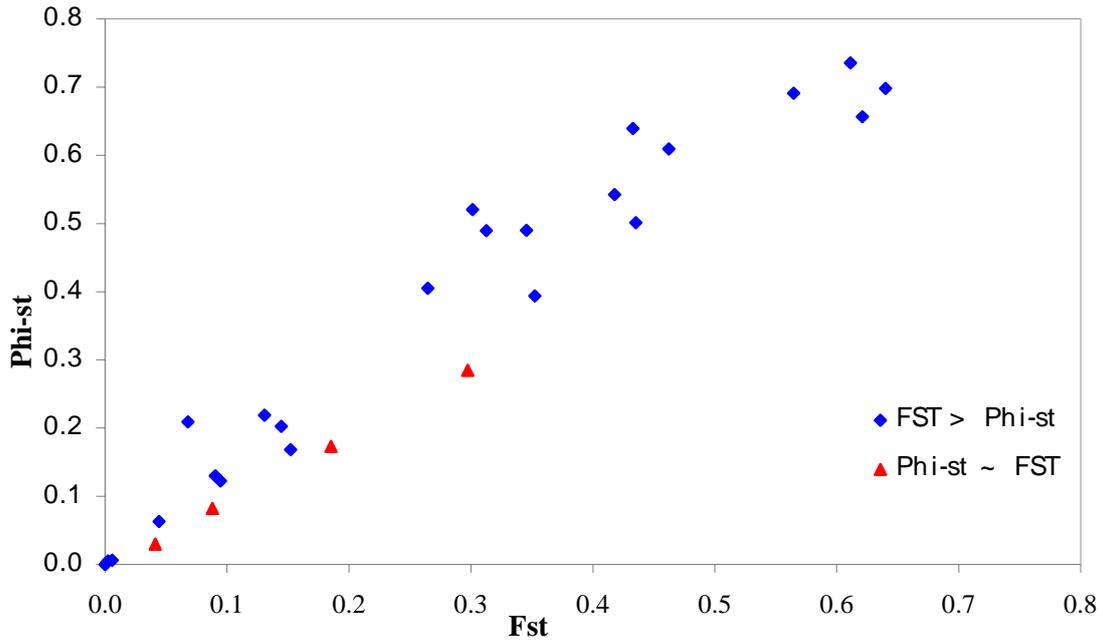


Figura 5. Relación entre los valores de F_{ST} convencional (Wright, 1951) y Φ_{ST} de Tamura (Tamura, 1992; Kumar *et al.*, 1993), incluyendo únicamente las colonias del golfo de México (desde Rancho Nuevo hasta Alacranes).

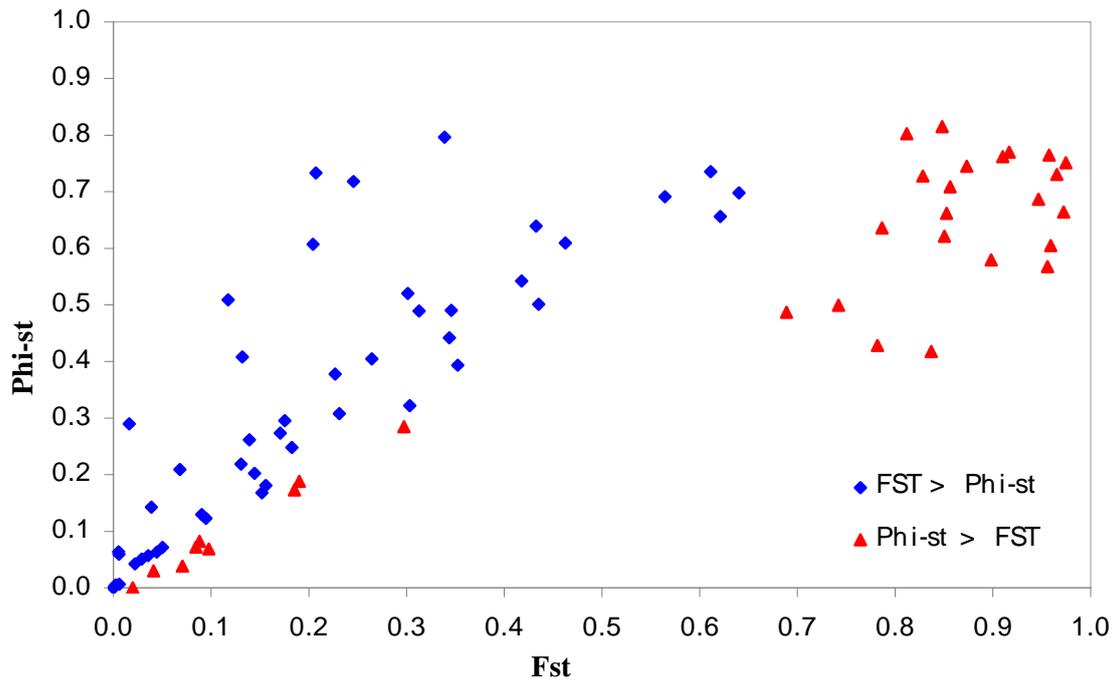


Figura 6. Relación entre los valores de F_{ST} convencional (Wright, 1951) y Φ_{ST} de Tamura (Tamura, 1992; Kumar *et al.*, 1993), incluyendo el total de colonias dentro del Gran Caribe (desde Florida hasta Surinam).

7.6. Identificación de la estructura genética.

7.6.1. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA).

Complementando el proceso de identificación de las UM, una de las maneras más efectivas de detectar la estructura poblacional es el Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) que evalúa cómo se distribuye la variación genética dentro y entre las poblaciones o grupos de poblaciones. Este método se basa en estimaciones de sumas de las diferencias (distancias genéticas) al cuadrado entre pares de comparaciones (Li, 1976). Así, es posible elaborar un análisis jerárquico de la distribución de la varianza a partir de las diferencias al cuadrado de todos los pares de comparaciones entre poblaciones (Herrán, *et al.*, 1999). Este análisis también fue aplicado mediante las dos vertientes utilizadas para las estimaciones de diferencias: sólo considerando las frecuencias haplotípicas de las poblaciones mediante el F_{ST} , y a través de las distancias genéticas utilizando el modelo de Tamura. El procedimiento se aplicó manteniendo las poblaciones fijas pero variando la manera en conformar diferentes agrupaciones con las mismas para definir las agrupaciones que maximizaran la distribución jerárquica, pero también se compararon los resultados usando F_{ST} convencional vs Φ_{ST} para ver qué método daba una explicación más consistente de la estructura genética de las poblaciones analizadas. Finalmente, nos interesaba también observar como cambiaban los resultados usando F_{ST} vs Φ_{ST} dependiendo del ámbito geográfico de donde se seleccionaba el conjunto de poblaciones evaluadas. Esto es, se estimarían AMOVAs a diferentes niveles de resolución geográfica: comenzando con el conjunto completo de poblaciones en la cuenca Atlántica hasta regiones más pequeñas y cercanas a nuestras colonias (p. ej. el Gran Caribe, Caribe occidental). Para este propósito se consideraron cinco grandes regiones y dentro de cada una de ellas las poblaciones fueron agrupadas de distintas maneras para observar cómo se modificaba (a) la distribución de la variación genética entre las agrupaciones, (b) si la distribución de la variación entre las agrupaciones era significativa, y (c) como se comparaban los valores a partir del uso de F_{ST} vs Φ_{ST} .

Con el AMOVA se indicó una fuerte estructura para las colonias del golfo de México. En la Tabla 9 se observa que la distribución de la variación entre grupos (índice Φ_{CT}) y entre individuos dentro de las poblaciones (índice Φ_{ST}) fue más alta

considerando todas las colonias del Atlántico (Atlántico y Mediterráneo, combinaciones 2 y 1, respectivamente) cuando se usó como métrico las distancias genéticas entre poblaciones (Φ_{ST}), en comparación con el uso sólo de frecuencias, y fue disminuyendo para ambos parámetros en tanto que se iba removiendo poblaciones pertenecientes al linaje del Atlántico Sur. En contraparte, cuando se analiza usando frecuencias únicamente, el porcentaje de Φ_{CT} aumenta cuando se van restando poblaciones para concentrarse en las que son las más cercanas geográficamente a nuestras poblaciones del golfo de México (combinación 11) cuya proporción de la variación es más fuerte, esto indica que hay una clara evidencia de heterogeneidad entre los grupos de colonias seleccionadas.

Esta estructura se fortalece si se comparan los resultados del AMOVA con los de la reconstrucción genealógica mostrada en el diagrama anteriormente analizado (Figura 3). En ambos estudios se manifiesta la existencia de dos linajes de *C. mydas* a lo largo de todo el Atlántico, cuya frontera geográfica parece ocurrir entre las colonias de Aves y Surinam, la primera con haplotipos de ambos linajes, y la segunda sólo presenta haplotipos del linaje que pertenece al Atlántico Oriental. Y finalmente, que las tortugas que anidan en colonias mexicanas a pesar de que presentan haplotipos de ambos linajes, el linaje que mejor representado es el que incluye a las colonias del Gran Caribe Occidental y Mediterráneo (clado A), ya que aparece en muy baja proporción el haplotipo CM-A5 (clado B).

En general, los resultados del AMOVA revelan que la distribución de la variación entre grupos se manifiesta más fuerte con el uso de un modelo que incluye en su estimación, además de frecuencias haplotípicas, distancias genéticas entre los haplotipos cuando se trata de poblaciones que pertenecen a linajes distintos y esto, en el Atlántico, ocurre cuando se seleccionan poblaciones muy distantes geográficamente. Cuando se trata de poblaciones cercanas geográfica y evolutivamente, a través del método de frecuencias se explica un mayor porcentaje de la variación ya que por ser colonias del mismo linaje, no considera las diferencias moleculares sino que calcula sólo con base a las frecuencias entre los haplotipos. Por esto, en los análisis subsecuentes se trabajó bajo el método de frecuencias, porque se observó que es más sensible a las diferencias que se encuentran dentro de poblaciones de un mismo linaje (proporciona una mayor resolución), como lo son las colonias del presente trabajo.

Tabla 9. Resultados del Análisis de Varianza Molecular para determinar estructura entre distintas agrupaciones de colonias de tortuga verde en el Atlántico y las objeto de este estudio (10000 permutaciones). * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, ns no significativo.

REGIÓN	Número de grupos	n pobs.	F _{ST} convencional			Φ _{CT} Modelo Tamura		
			Φ _{CT}	Φ _{SC}	Φ _{ST}	Φ _{CT}	Φ _{SC}	Φ _{ST}
ATLÁNTICO Y MEDITERRÁNEO	(1) Un grupo	20	/	34.9	65.09***	/	17.2	82.8***
	(2) Tres grupos	20	53.1***	19.7***	27.15***	77.5***	10.9***	11.6***
GRAN CARIBE	(3) Un gpo.	13	/	44.3	55.66***	/	47.7	52.4***
	(4) Cuatro gpos.	13	14.8 _{ns}	41.7***	43.49***	(-)39.5 _{ns}	89.4***	50.1***
CARIBE OCCIDENTAL	(5) Un gpo.	11	/	49.7	50.32***	/	80.9	19.1***
	(6) Cinco gpo.	11	46.77*	4.9**	48.37***	17.3**	2.6*	80.1***
FLORIDA HASTA Q. ROO.	(7) Un gpo.	10	/	49.5	50.55***	/	66.7	33.3***
	(8) Cuatro gpos.	10	46.3**	3.1**	50.61***	27.5**	4.7*	67.8***
	(9) Cinco gpos.	10	47.8***	1.4*	50.76***	29.5**	2.8 _{ns}	67.7***
	(10) Seis gpos.	10	48.8***	0.4 _{ns}	50.8***	33.2***	(-)0.6 _{ns}	67.3***
GOLFO DE MÉXICO	(11) Un gpo.	8	/	56.1	43.86***	/	72	28.0***
	(12) Cuatro gpos.	8	57.5**	0.5 _{ns}	42***	40.8**	(-)0.33 _{ns}	59.6***

REGIÓN	Agrupaciones evaluadas y composición usada (código de agrupación correspondiente a la tabla superior)
ATLÁNTICO Y MEDITERRÁNEO	(1) /Todas las colonias del Atlántico y Mediterráneo/ (2) /Gran Caribe/ Mediterráneo/ AtlánticoSurCentral/
	(3) /Gran Caribe/
GRAN CARIBE	(4) /Florida+Tam+Far+Le/IC-IA+Sb-Ch+CA/ Alac+EC+MxEnc/CR+Av+Sur/
	(5) /Florida+Tam+Far+Le+IC-IA+Sb-Ch+CA+Alac+EC+MxEnc+CR/ (6) /Florida/Tam+Far+Le/IC-IA+Sb-Ch+EC/CA+Alac+MxEnc/CR/
CARIBE OCCIDENTAL	(7) /Florida+Tam+Far+Le+IC-IA+Sb-Ch+EC+CA+Alac+MxEnc/ (8) /Florida/Tam+Far+Le/IC-IA+Sb-Ch+EC/CA+Alac+MxEnc/ (9) /Florida/Tam+Far+Le/IC-IA+Sb-Ch+EC/CA+Alac/MxEnc/ (10) /Florida/Tam+Far+Le/IC-IA+Sb-Ch+EC/CA/Alac/MxEnc/
	(11) /Tam+Far+Le+IC-IA+Sb-Ch+EC+CA+Alac/ (12) /Tam+Far+Le/IC-IA+Sb-Ch+EC/CAR/Alac/

7.6.2. Identificación de barreras genéticas.

Basándonos en los valores de F_{ST} previamente establecido como el parámetro idóneo para estimación de los patrones de diferenciación genética entre las colonias del golfo de México, se aplicó un Análisis Espacial de Varianza Molecular (SAMOVA), para complementar la identificación de los patrones de subdivisión poblacional usando un método semi-automatizado diseñado expresamente para este propósito (Dupanloup *et al.*, 2006). En este caso se complementan los valores de del índice F_{ST} entre pares de poblaciones con la ubicación geográfica de cada colonia. Este método define grupos de poblaciones que minimizan las distancias geográficas y diferencias genéticas. Específicamente, dado que este procedimiento se basa en el AMOVA, para un número de grupos seleccionado busca aquella composición que arroje el valor más alto de Φ_{CT} , que nos definiría la proporción total de la varianza debido a diferencias entre grupos de poblaciones (Excoffier, 1992). Con los datos de las poblaciones del Caribe Occidental, notamos que los valores de Φ_{CT} disminuían al aumentar el número de grupos (Tabla 10), mientras que los valores de Φ_{ST} aumentaban. En las primeras cuatro agrupaciones asignadas, se observaron algunas consistencias entre los resultados del SAMOVA y la estructura definida hasta ahora en las pruebas de diferenciación interpoblacional y en el AMOVA. Por ejemplo, la unión de las colonias de Rancho Nuevo, Farallón y Lechuguillas en un solo grupo, y la exclusión gradual de las poblaciones de QR/Enc y Alacranes, sucesivamente. Al ir aumentando los grupos, se notó que las colonias de Farallón y Lechuguillas se separan cada una de manera independiente de la población de Rancho Nuevo (5 y 7). Tal vez estas diferencias manifiestas en el SAMOVA se deben a la proporción de los haplotipos entre esas tres poblaciones, y al tamaño de muestra, y no a que se trate de poblaciones diferentes genéticamente, ya que en los análisis anteriores no mostraban diferencias significativas entre sí.

Tabla 10. Índices de fijación correspondientes a los grupos de poblaciones identificados a través del SAMOVA (Dupanloup *et al.*, 2006) para delimitar barreras geográficas entre las colonias de tortuga verde en el Atlántico y las del golfo de México.

No. de grupos	Composición derivada por el SAMOVA para cada uno de los grupos	Distribución jerárquica de la variación (F_{ST} convencional)		
		Φ_{CT}	Φ_{SC}	Φ_{ST}
2	1. Rancho Nuevo / Farallón / Lechuguillas / QR/Enc 2. Florida / IC-IA / Sb-Che / El Cuyo / Costa Rica / Cayo Arcas / Alacranes	27.19	4.67	68.13
3	1. Rancho Nuevo / Farallón / Lechuguillas 2. Florida / IC-IA / Sb-Che / El Cuyo / Costa Rica / Cayo Arcas / Alacranes 3. QR/Enc	27.18	4.44	68.38
4	1. Rancho Nuevo / Farallón / Lechuguillas 2. Florida / IC-IA / Sb-Che / El Cuyo / Costa Rica / Cayo Arcas 3. QR/Enc 4. Alacranes	26.96	3.11	69.93
5	1. Rancho Nuevo / Lechuguillas 2. Farallón 3. QR/Enc 4. Florida / IC-IA / Sb-Che / El Cuyo / Costa Rica / Cayo Arcas 5. Alacranes	26.28	3.4	70.32
6	1. Rancho Nuevo / Lechuguillas 2. Farallón 3. QR/Enc 4. IC-IA / Sb-Che / El Cuyo / Costa Rica / Cayo Arcas 5. Alacranes 6. Florida	25.67	2.39	71.94
7	1. Rancho Nuevo 2. Farallón 3. QR/Enc 4. IC-IA / Sb-Che / El Cuyo / Costa Rica / Cayo Arcas 5. Alacranes 6. Florida 7. Lechuguillas	24.78	2.78	72.44

Empleando también una correlación entre distancias genéticas y ubicación geográfica, y con el fin de comparar las agrupaciones generadas con el programa SAMOVA, se identificaron las barreras por restricción de flujo génico entre las poblaciones del Caribe Occidental (desde Florida hasta Costa Rica, incluyendo los datos del estudio de Encalada, *et al.*, 1996), a través del programa BARRIER (Manni *et al.*, 2004). De un total máximo de 10 barreras que puede evaluar el programa, fueron elegidas las primeras seis para su interpretación (Figura 7). Se eligió esta cantidad porque al asignar una séptima barrera empezamos a notar anomalías, como la separación de la colonia de Farallón de Lechuguillas, cuando ambas poblaciones no manifestaron diferencias genéticas en ninguna prueba de diferenciación, además de su proximidad geográfica. La principal consistencia entre los resultados de BARRIER y SAMOVA fue que la primer barrera aisló las poblaciones de Rancho Nuevo, Farallón y Lechuguillas, del resto de las colonias, consistencia que se ha mantenido en cada una de las pruebas de diferenciación realizadas; las siguientes tres barreras (b, c, d) aislaron a Costa Rica, QR/Enc y Florida, en ese orden y cada una de manera independiente. La quinta barrera definida (e) aisló, por un lado, a la población de El Cuyo y, por otro lado, separó en un solo grupo a las poblaciones de IC-IA y Sb-Che, dejando unidas las colonias de Cayo Arcas y Alacranes; la última barrera (f) separó estas dos últimas poblaciones. Quedando, finalmente, un total de ocho grupos de acuerdo a este análisis. Esto confirma una vez más la fuerte estructura de las poblaciones de *C. mydas* en esta región del Atlántico Occidental.

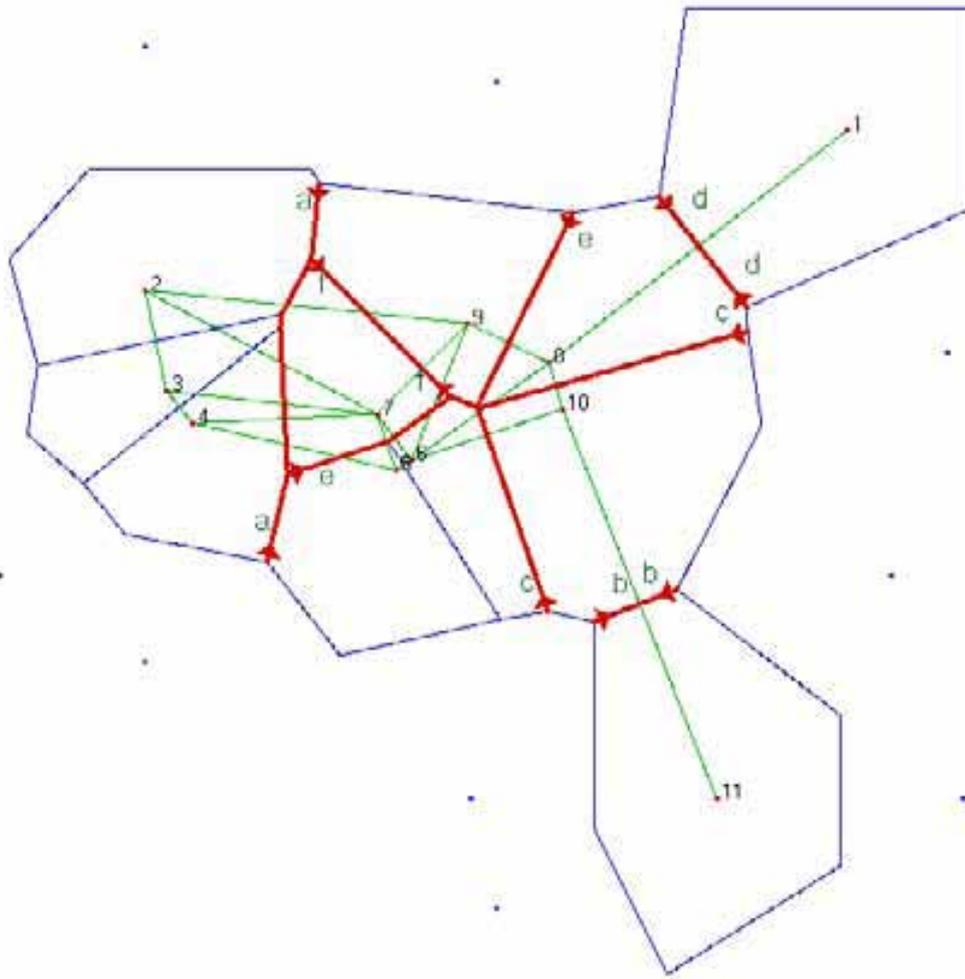


Figura 7. Diagrama de Voronoi generado como salida del programa BARRIER (Manni *et al.*, 2004) representando las seis barreras geográficas principales entre poblaciones (líneas rojas, designadas **a** a **f** en la Figura). La colocación de los puntos para las poblaciones está en escala a la ubicación geográfica de las poblaciones. 1 = Florida, 2 = Rancho Nuevo, 3 = Farallón, 4 = Lechuguillas; 5 = IC-IA, 6 = Sb-Che, 7 = Cayo Arcas, 8 = El Cuyo, 9 = Alacranes, 10 = QR/Enc, 11= Costa Rica.

7.6.3. Niveles de Flujo génico (Nm).

La dinámica de las poblaciones analizadas dentro del golfo de México y a lo largo del Atlántico y evidenciada a través de los análisis de diferenciación interpoblacional, AMOVA y asignación de barreras biogeográficas, se vio reflejada de igual forma en los niveles de flujo génico entre ellas, obtenido de manera indirecta a través de un derivado del F_{ST} usando la ecuación $Nm=(1-F_{ST})/(2*F_{ST})$ (Slatkin, 1995).

Dentro de las colonias del golfo de México, los resultados (Tabla 11) muestran valores visiblemente altos entre las colonias de Veracruz (Farallón y Lechuguillas) con Rancho Nuevo, y entre las colonias continentales de Campeche (IC-IA y Sb-Che) y Yucatán (El Cuyo), observándose incluso valores de Nm infinitos entre algunos pares de poblaciones. Sin embargo, valores altos también fueron observados entre algunas colonias del Gran Caribe y colonias del golfo de México, como Florida con Rancho Nuevo y Costa Rica con IC-IA y El Cuyo. Esto se explica por la abundancia de los haplotipos más representados de la región: las colonias del nor-noreste comparten el haplotipo CM-A1 con una gran proporción, en tanto que en las del sur-sureste el haplotipo CM-A3 es el más abundante, por lo que no es sorprendente que haya evidencia de una conexión entre estas colonias evidentes en sus niveles de flujo génico. Dentro del Caribe Oriental, las colonias de Aves y Surinam arrojaron un valor infinito de flujo génico, y en el Atlántico Sur, el valor más elevado lo obtuvieron las colonias de Brasil, A. Rocas e I. Trindade, con un $Nm=130$. Entre las colonias de África e Isla Ascensión, se obtuvo un Nm promedio=15, cálculo realizado debido al valor alto entre Isla Ascensión e Isla Bioko.

Tabla 11. Valores de flujo génico (Nm) entre todas las colonias de tortuga verde en el golfo de México, resto del Atlántico y Mediterráneo.

	Florida	R.Nuevo	Farallón	Lech.	IC-IA	Sb-Che	Cuyo	C.Arc	Alac	QR/Enc	CR	Sur	Aves	A.Rocas	I.Trind	G. Bissau	I.Bioko	I.Asc.	S.Tome	
R.Nuevo	6.43																			
Farallón	9.30	inf																		
Lech.	1.05	7.45	16.23																	
IC-IA	0.82	0.32	0.28	0.18																
Sb-Che	1.41	0.52	0.46	0.22	83.98															
ElCuyo	1.52	0.50	0.42	0.22	inf	96.64														
CayoArcas	2.16	0.77	0.73	0.26	1.97	3.58	3.35													
Alacranes	6.77	1.78	1.89	0.52	1.26	2.47	2.39	5.58												
QR/Enc	12.54	6.48	7.93	1.19	0.63	1.33	1.12	2.26	7.32											
C.Rica	0.48	0.20	0.18	0.13	8.27	3.00	11.26	1.23	0.73	0.32										
Sur.	0.38	0.33	0.25	0.17	0.15	0.23	0.18	0.36	0.67	0.70	0.11									
Aves	0.30	0.26	0.19	0.15	0.16	0.21	0.17	0.29	0.53	0.50	0.12	inf								
A.Rocas	0.58	0.52	0.49	0.28	0.26	0.40	0.36	0.56	0.74	0.89	0.15	0.38	0.31							
I.Trind	0.55	0.50	0.47	0.31	0.29	0.41	0.37	0.53	0.68	0.80	0.17	0.39	0.33	130.18						
G.Bissau	0.10	0.08	0.03	0.08	0.08	0.07	0.05	0.06	0.13	0.15	0.08	0.02	0.03	1.80	2.12					
I.Bioko	0.24	0.21	0.16	0.14	0.14	0.17	0.14	0.20	0.31	0.35	0.10	0.13	0.11	4.84	4.40	4.39				
I.Asc.	0.29	0.27	0.25	0.20	0.19	0.23	0.21	0.27	0.34	0.38	0.14	0.21	0.20	9.43	7.19	8.29	61.95			
S.Tome	0.67	0.58	0.55	0.26	0.24	0.40	0.34	0.65	0.94	1.18	0.14	0.42	0.30	35.28	14.98	0.92	4.60	8.52		
Chipre	0.23	0.20	0.12	0.12	0.12	0.14	0.11	0.17	0.31	0.35	0.09	0.08	0.08	0.27	0.30	0.01	0.08	0.18	0.22	

7.6.4. Identificación de Unidades de Manejo (UM).

Para la determinación de las unidades demográficas o unidades de manejo, fueron considerados dos criterios en orden de aplicación tomando como base los resultados de la prueba de diferenciación interpoblacional y los del AMOVA (ambos análisis con los cálculos tanto de F_{ST} convencional como del modelo de Tamura), así como las agrupaciones generadas con la asignación de barreras demográficas con los programas SAMOVA y BARRIER: (1) los valores de significancia estadística (P) para cada prueba analítica implementada; (2) la ubicación geográfica, tamaño de muestra y composición haplotípica de aquellos pares de poblaciones que generaron resultados ambiguos; y (3) los valores de flujo génico entre las poblaciones.

Mediante la representación de los haplotipos encontrados en el Gran Caribe con un color particular para ver cómo se conduce su distribución (Figura 8), podemos reflejar las ambigüedades encontradas en la identificación de estructura genética entre las poblaciones. La primera de ellas se manifiesta entre las poblaciones de Florida y Rancho Nuevo que aparentemente en la prueba de diferenciación interpoblacional no mostraron diferencias genéticas significativas y cuyos valores de flujo génico fueron elevados ($Nm=6.43$), pero el hecho de que a Florida se le encuentre similitud con distintas colonias, es atribuido a la composición haplotípica de la misma, ya que contiene casi en una proporción de 1:1 los haplotipos más comunes (CM-A1 y CM-A3) del Atlántico Occidental, por esto no es sorprendente que con distintas pruebas se le agrupe con otras poblaciones. Al mismo tiempo no se encontraron diferencias significativas entre las tres poblaciones de Veracruz (Farallón, El Llano y Coyotes) y Rancho Nuevo, separadas entre sí por < 400 km, que genéticamente comparten en una elevada frecuencia el haplotipo CM-A1 (color amarillo). Para fines de manejo regional, se agruparon estas dos poblaciones en una sola (designada como RNVer), dejando a Florida, que ocurre en otra eco-región y a más de 2,000 km de distancia de las mexicanas, como una población independiente. Además, no se tiene información de intercambio de tortugas marcadas con placas metálicas entre estas regiones.

Otro caso lo conforman todas las colonias Campeche, exceptuando cayo Arcas, con El Cuyo en Yucatán (designada como CmCu), que no presentaron diferencias significativas y cuyos valores de flujo génico fueron muy altos ($Nm > 80$); éstas comparten en un alto porcentaje el haplotipo CM-A3 (color azul), designándose como otra UM. Independientemente, la significancia estadística de la colonia de Chenkán

demuestra que no hay diferencias entre ella y colonias como Florida (tanto con el índice F_{ST} como con el modelo de distancias genéticas de Tamura) y Farallón (sólo con el modelo de Tamura), pero se debe a que el tamaño de muestra de esta población es muy pequeño ($n=4$) y el análisis responde agrupándola a diversas colonias. Por eso se decidió agruparlo con las poblaciones continentales más cercanas geográficamente, las de Campeche y Yucatán.

A pesar de que las poblaciones de cayo Arcas y Alacranes, no mostraron diferencias significativas con otras colonias no sólo del golfo de México, sino del Gran Caribe, se decidió mantenerlas como UM separadas e independientes. Si retomamos los datos de composición haplotípica (Tabla 3), observamos que estas poblaciones, además de presentar los haplotipos más comunes, tienen otros que no se comparten con ninguna otra colonia mexicana: Alacranes presenta el haplotipo CM-A27 que aparentemente es endémico de este sitio de México y de Cuba (Espinosa *et al.*, 2000), y en cayo Arcas se observó de manera singular el haplotipo CM-A47. Aunado a esto, estas colonias comparten el haplotipo CM-A5, que como se observó en el análisis genealógico (Figura 3) pertenecen a otro linaje. Esto las coloca en un panorama evolutivo como poblaciones particulares y lo interpretamos como evidencia de que deben identificarse como unidades independientes del resto.

La población de QR/Enc queda como una Unidad independiente, reflejando la alta diversidad de haplotipos que presenta, incluidos los que comparte con otras poblaciones del Gran Caribe y otros endémicos.

En el resto del Gran Caribe se ubicaron otras dos UM, la primera conformada por la población de Tortuguero, en Costa Rica (Bjorndal *et al.*, 2005) y la segunda por las colonias de Aves y Surinam. La explicación del por qué se dejó a Costa Rica como una unidad independiente, a pesar de que no presenta diferencias significativas con colonias mexicanas debido a que cuenta con una alta frecuencia del haplotipo CM-A3, se confirma con los resultados del AMOVA (Tabla 9). En las combinaciones 5 y 6, incluyendo a Costa Rica con el resto de colonias del Caribe occidental, y colocándola como un grupo independiente, el valor de P del estadístico Φ_{ST} fue significativo en ambos casos, por lo tanto se considera congruente, adicionalmente a su ubicación geográfica lejana del ámbito mexicano, dejarla como una UM independiente.

En el Atlántico Sur Central se manifestaron otras dos Unidades caracterizadas por: (1) las dos colonias de Brasil y (2) Isla Ascensión y las colonias africanas, en tanto que en el Mediterráneo, Chipre queda como una sola UM. En conclusión, se definieron

un total de ocho Unidades de manejo para la tortuga verde en el Gran Caribe (incluyendo las cuatro del golfo de México), u once a lo largo de todo el Atlántico y Mediterráneo (Tabla 12).

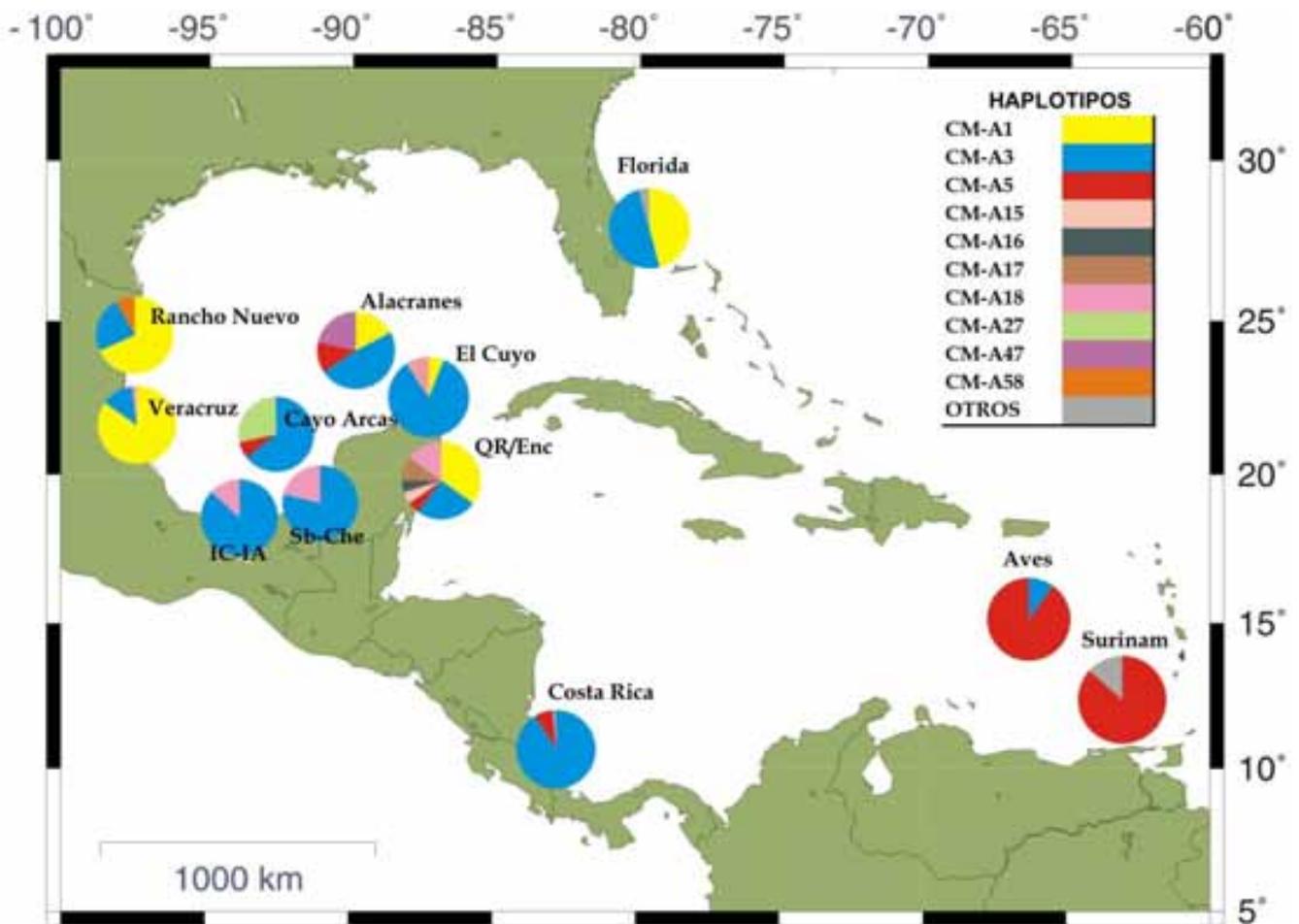


Figura 8. Representación gráfica de los haplotipos encontrados en las poblaciones estudiadas en este proyecto, comparadas con el resto de colonias que componen el Gran Caribe, y cuyos datos ya han sido publicados: Florida, QR/Enc, Surinam (Encalada *et al.*, 1996); Costa Rica (Encalada *et al.*, 1996; Bjorndal *et al.*, 2005); Aves (Encalada *et al.*, 1996; Naro-Maciel *et al.*, 2007); el resto, este trabajo.

Tabla 12. Total de Unidades de Manejo identificadas en este estudio (4) y con el resto de colonias de *C. mydas* a lo largo del Atlántico (7). Donde: RNVer (Rancho Nuevo y las colonias de Veracruz); CmCu (Colonias de Campeche [Isla Aguada, Isla del Carmen, La Escollera/Sabancuy, Chenkán] y El Cuyo); QR/Enc (Quintana Roo de Encalada *et al.*, 1996); AvSu (Aves y Surinam); TIRA (Isla Trindade y Atolón Rocas); AtlSur (Isla Ascensión y las colonias africanas de Sao Tome, Guinea Bissau e Isla Bioko).

Unidades de Manejo (UM)	
Golfo de México	Resto del Atlántico
	Florida
	QR/Enc
RNVer	Costa Rica
CmCu	AvSu
Cayo Arcas	TIRA
Alacranes	AtlSur
	Chipre

7.5. Identificación de los procesos evolutivos involucrados.

7.5.1. Variabilidad genética.

Las medidas de variación genética [diversidad nucleotídica (π) y diversidad haplotípica (h)] fueron calculadas para las UM identificadas. El valor más alto de diversidad haplotípica para las poblaciones estudiadas se observó en Alacranes ($h=0.708$; Tabla 13), reflejado por el elevado número de haplotipos que presenta y cuyas frecuencias están distribuidas de una manera más homogénea comparadas con las demás; en segundo término la población de cayo Arcas ($h=0.539$), que presenta 3 haplotipos en un tamaño pequeño de muestra ($n=14$). En el contexto de todo el Atlántico, la colonia de QR/Enc obtuvo el valor más grande ($h=0.82$) que presenta, en un tamaño pequeño de muestra ($n=20$) un total de 7 haplotipos distribuidos homogéneamente. Por el contrario, el valor más bajo lo obtuvo la colonia de Chipre ($h=0.077$) que en 26 individuos manifestó 2 haplotipos en una proporción de 96 y 4%, respectivamente. El valor más elevado de diversidad nucleotídica se presentó en la colonia de Alacranes ($\pi=0.006$). No sorprende, ya que al ser un estimado que además de tomar en cuenta las frecuencias haplotípicas, considera también las diferencias a nivel nucleótido entre las secuencias en su composición, en esta colonia el haplotipo CM-A5 tiene una representatividad del 13% y que, al pertenecer a otro linaje, las diferencias nucleotídicas con respecto a los otros haplotipos que componen esta población, son mayores. En esta prueba igualmente la colonia de Chipre obtuvo el valor más bajo de diversidad. En general, los valores de diversidad genética de las poblaciones del golfo de México se encontraron dentro de la gama de valores reportados.

En estos análisis de las colonias en el golfo de México resaltan los resultados para Alacranes y cayo Arcas cuyos valores tanto de h como de π están entre los más altos registrados (Figura 9) para la especie en la cuenca Atlántica. Este fenómeno lo comparte también la colonia de QR/Enc. Las implicaciones de estas observaciones para la identificación de procesos evolutivos de las poblaciones serán discutidas más adelante.

Tabla 13. Diversidad de la región control del ADNmit para las cuatro UM de nuestro estudio, comparada con el resultado de todas las reconocidas en el Atlántico.

UM	n hap	Diversidad haplotípica (h)	Error st	Diversidad nucleotídica (π)	Error st	Ref.
Florida	3	0.562	0.0468	0.001	0.0012	Encalada <i>et al.</i> (1996)
RNVer	4	0.317	0.0483	0.001	0.0008	Este trabajo
CmCu	3	0.260	0.0393	0.001	0.0010	Este trabajo
Cayo Arcas	3	0.539	0.1146	0.004	0.0025	Este trabajo
Alacranes	4	0.708	0.0680	0.006	0.0035	Este trabajo
QR/Enc	7	0.816	0.0575	0.005	0.0032	Encalada <i>et al.</i> (1996)
Costa Rica	5	0.163	0.0231	0.003	0.0020	Encalada <i>et al.</i> (1996); Bjorndal <i>et al.</i> (2005)
AvSur	4	0.209	0.0789	0.003	0.0018	Encalada <i>et al.</i> (1996); Naro-Maciel <i>et al.</i> (2007)
TIRA	10	0.511	0.0441	0.001	0.0011	Bass <i>et al.</i> (2006)
AtlSur	18	0.259	0.0289	0.001	0.0007	Encalada <i>et al.</i> (1996); Formia <i>et al.</i> (2005-2006)
Chipre	2	0.077	0.0697	0.000	0.0000	Encalada <i>et al.</i> (1996); Kaska <i>et al.</i> (2000)

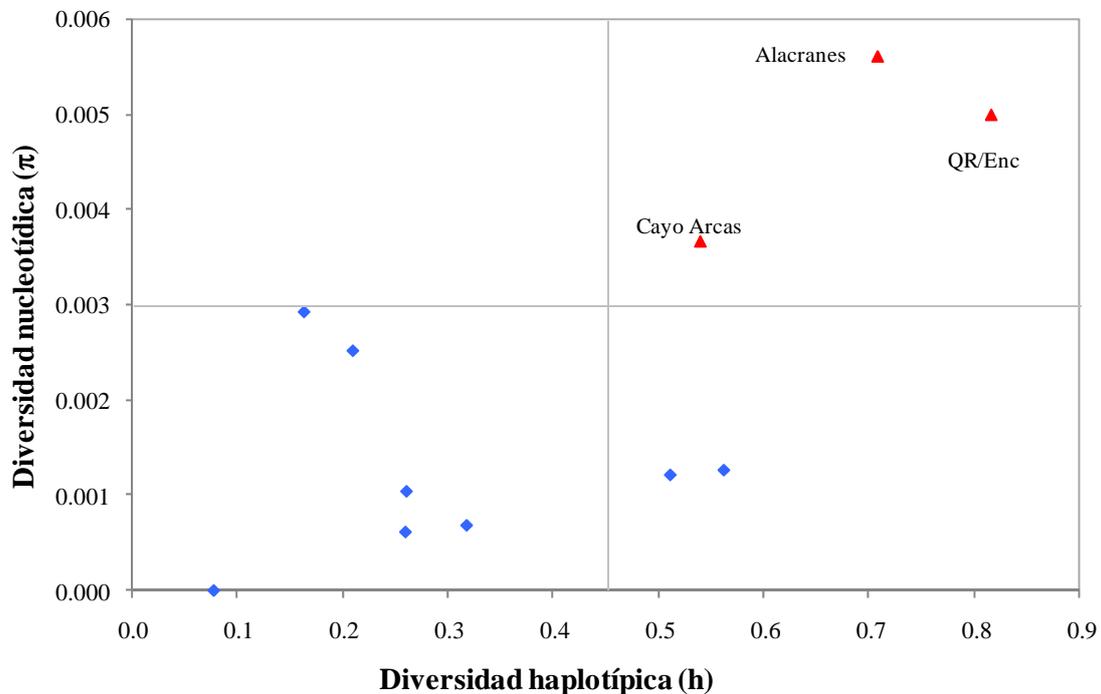


Figura 9. Relación entre los valores de diversidad genética (nucleotídica y haplotípica) de todas las UM del Atlántico. En color rojo la representación de las poblaciones analizadas en este estudio, observándose que Cayo Arcas y Alacranes comparten valores más altos para ambos parámetros junto con la colonia de QR/Enc (Encalada *et al.*, 1996).

7.5.2. Historia demográfica.

Los parámetros para evaluar el historial demográfico para cada UM fueron calculados a través de la distribución “Mismatch” (Harpending, 1994), que representa la distribución de frecuencias del número de diferencias de nucleótidos entre todos los pares de haplotipos de cada población. Con base en teoría genética, poblaciones que se encuentran en equilibrio demográfico (poblaciones con una demografía estacionaria en escala de tiempo evolutivo), exhibirían una distribución multimodal, mientras que para poblaciones en expansión demográfica reciente la distribución mismatch sería unimodal o lisa (Schneider *et al.*, 2000).

Para este análisis, y con el fin de dilucidar si las unidades muestreadas del golfo de México se ajustaban al modelo de expansión poblacional súbita (Rogers y Harpending, 1992), se realizaron dos procedimientos: (1) aplicando el análisis a las 4 UM identificadas para evaluar el comportamiento para de conjuntos de poblaciones dentro de conjuntos genéticamente homogéneos; y (2) tomando todas las colonias del golfo de México como una población conjunta. La prueba también se aplicó al resto de colonias que conforman el Caribe Occidental para comparar con lo encontrado para el golfo de México y con lo que se tiene publicado para la especie.

En el primer caso, los parámetros de la distribución mismatch indicaron un patrón unimodal únicamente para la población de RNVer (dentro del golfo de México) y para Florida, en tanto que las otras 3 UM mexicanas demostraron una distribución bimodal, lo mismo que las poblaciones de QR/Enc y Costa Rica. Apegándonos a lo que establece el modelo de Rogers y Harpending (1992), significaría que las poblaciones ubicadas en el norte del Caribe Occidental, fueron objeto de una expansión demográfica reciente, mientras que las situadas en el sur, se encuentran estables o en equilibrio (Figuras 10 a-h).

De acuerdo a Rogers y Harpending (1992), con el tipo de distribución que se ajuste al modelo de expansión poblacional súbita, se puede ver si la población ha sufrido un crecimiento reciente: mientras más hacia la izquierda esté la curva, significa que la expansión ha sido más reciente, ya que la curva se desplaza a la derecha a una razón de $1/2u$. Esto significa que las poblaciones del Caribe Occidental que se ajustan a este modelo han sido objeto de una expansión poblacional reciente.

Sin embargo, identificamos algunas anomalías en los resultados. De acuerdo a las características peculiares de cayo Arcas y Alacranes al presentar mayor diversidad

haplotípica y nucleotídica que el resto de las poblaciones, se esperaría que presentaran valores altos de Tau (τ , número de sustituciones nucleotídicas entre pares de haplotipos). No obstante, se observaron valores elevados de τ para la población de CmCu, en combinación con intervalos de confianza del 95% muy altos ($\gg 2$; Tabla 14a). Otra de las ambigüedades encontradas, fueron los valores bajos de Raggedness (indicativos de distribuciones unimodales) en colonias donde se observó un patrón de distribución bimodal, por ejemplo Alacranes y QR/Enc. Probablemente estas inconsistencias fueron ocasionadas por un problema con el tamaño de muestra de las colonias tomadas individualmente, por lo que finalmente se decidió aplicar este análisis para las UM ya identificadas con el objetivo de obtener resultados más robustos.

Tabla 14a-b. Valores de los parámetros obtenidos con el análisis de distribuciones Mismatch para las UM identificadas dentro del Gran Caribe Oriental (a) y para las colonias del golfo de México unidas en una sola población (b).

Población	Raggedness	Rag. P-valor	Tau	t (años)	Tajima's D	D P-valor	Fu's Fs	Fu's P-valor
a. UM dentro del golfo de México								
Florida	0.234	0.048	0.79	46,882	0.29	0.7	0.29	0.519
RNVer	0.229	0.378	0.39	23,234	-0.71	0.287	-1.28	0.228
CmCu	0.616	0.003	3.07	181,499	0.59	0.765	1.03	0.670
Cayo Arcas	0.176	0.267	0.68	40,438	-1.81	0.02	2.39	0.888
Alacranes	0.078	0.644	1.39	81,882	0.23	0.637	3.37	0.938
QR/Enc	0.071	0.895	0.63	37,304	-1.37	0.074	-0.56	0.393
Costa Rica	0.725	0.725	3	177,360	-0.35	0.428	3.55	0.906
b. Colonias del golfo de México como una sola población								
golfo de México	0.11	0.0003	0.84	49,601	-1.19	0.10	-0.51	0.46

El análisis también fue aplicado al conjunto de colonias del golfo de México para tener un panorama amplio del tipo de evento sucedido en toda la región. Se observó una distribución unimodal, ajustándose al modelo de expansión poblacional súbita. El valor de τ para todo el golfo de México fue bajo (0.84), lo mismo que el valor de Raggedness coincidente con el tipo de distribución encontrada (Tabla 14b).

Tomando en cuenta una tasa de mutación (μ) para la región control de 0.01715 sustituciones/sitio/millones de años (Encalada *et al.*, 1996; Formia *et al.*, 2005) se calculó, considerando el tamaño de las secuencias analizadas ($k= 483$ pb) y los valores de τ para cada Unidad demográfica, el tiempo transcurrido desde que se dieron las expansiones que el modelo supone. La población de CmCu es la que obtuvo una

estimación mayor para el tiempo desde su expansión con 181,499 años, por el contrario a la población de RNVer que habría sufrido una expansión más reciente, hace unos 23,234 años. A nivel global, el cálculo del tiempo de expansión para toda la región del golfo de México fue de 49,601 años.

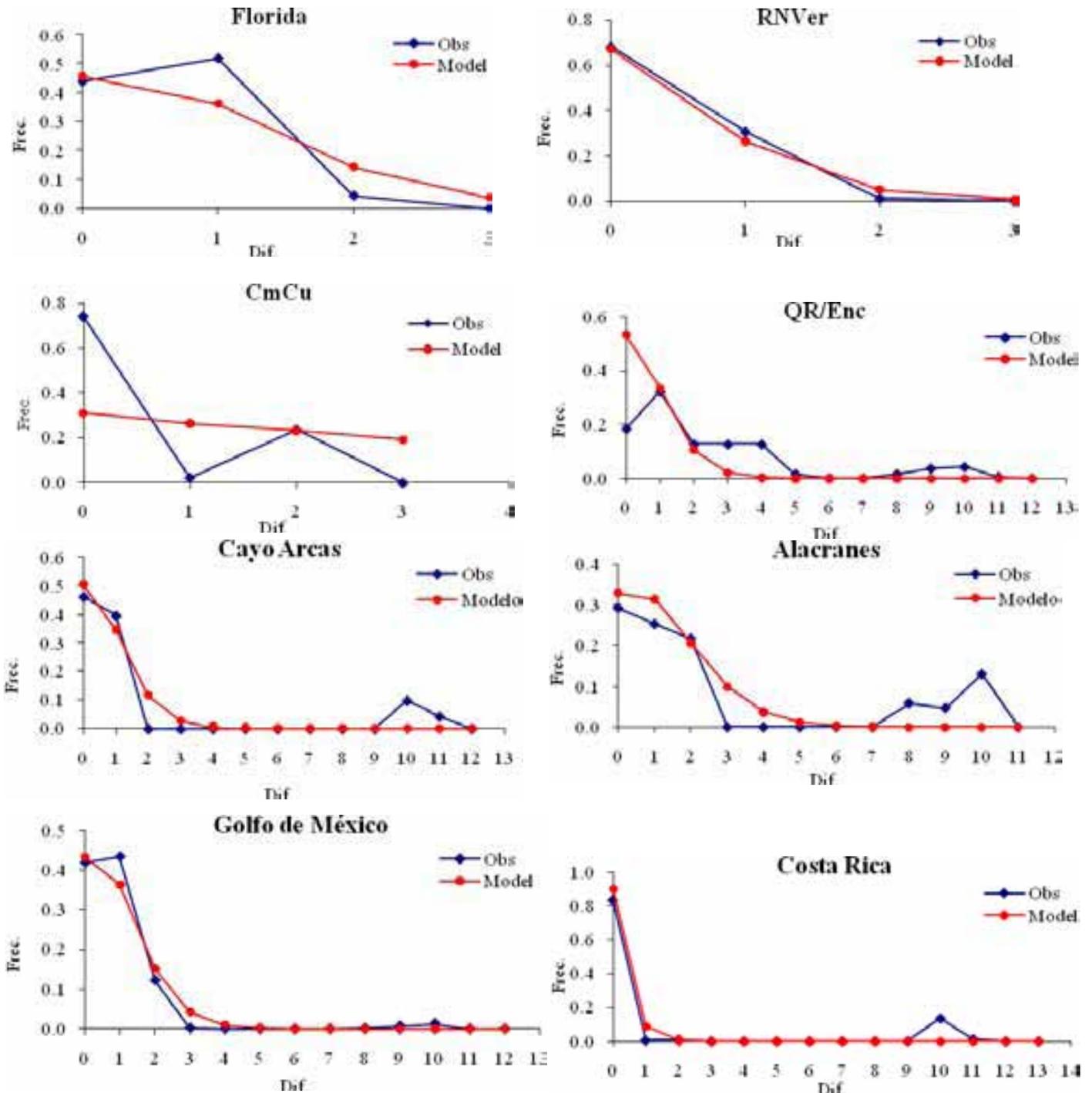


Figura 10 a-h. Distribuciones Mismatch para las UM dentro del Caribe Occidental (desde Florida hasta Costa Rica) y para el golfo de México como una sola unidad (10,000 permutaciones), mostrando las frecuencias de las diferencias nucleotídicas entre los haplotipos reportados para cada población. La línea azul representa la distribución observada, y la línea roja la distribución según el modelo de expansión súbita (Rogers y Harpending, 1992).

En conjunto con este análisis, se realizó una prueba de neutralidad, y a pesar de que los valores de F_u dieron negativos (indicativo de no neutralidad) para algunas de las UM y para el golfo de México uniendo todas las colonias en una sola población, no se observó significancia estadística ($P > 0.05$).

7.5.3. Modelo de aislamiento por distancia.

Entre los procedimientos aplicados para conocer qué modelos evolutivos dieron origen a la estructura de las poblaciones de tortuga verde en el golfo de México, y partiendo de la hipótesis que la composición actual de las colonias obedece a un modelo de aislamiento por distancia, se realizó una prueba de Mantel abarcando las colonias de la región del Caribe Occidental, desde Florida hasta Costa Rica. La prueba consiste en una correlación lineal simple entre dos o más matrices de distancias. En este caso se evaluó la relación entre las distancias geográficas (en km y tomando en cuenta la curvatura de la Tierra) y las distancias genéticas (matriz de F_{ST} convencional) entre las poblaciones, aplicando un análisis de regresión lineal entre ambas matrices. La significancia estadística de esta relación fue estimada usando permutaciones (10,000). La distancia de separación máxima entre las colonias fue de 2,500 km, y como la prueba de distribuciones mismatch, este análisis también fue aplicado bajo dos modalidades: la primera es tomando las poblaciones separadas (un total de 10, agrupando Farallón con Lechuguillas), y la segunda como resultaron después de la identificación de las unidades demográficas (7 poblaciones)

Para el primer caso, el resultado arrojó diferencias no significativas a $\alpha=0.05$ ($P=0.124$), y la línea de correlación apenas explica el 6% de los datos (Figura 11a). Esto significa que no hay una relación entre la distancia geográfica con el grado de diferenciación genética entre las poblaciones. Por ejemplo, hay poblaciones (en círculo negro, las combinaciones de Sb-Che, IC-IA y cayo Arcas, con Veracruz) cuya separación geográfica está entre 518-626 km y presentan un alto grado de diferenciación genética, mientras que hay otras (círculo rojo, Florida con Rancho Nuevo, e IC-IA y Sb-Che con Costa Rica) muy distantes geográficamente pero con menor valor de F_{ST} .

Cuando agrupamos las poblaciones en Unidades de manejo (Figura 11b), se observó el mismo patrón. La prueba estadística dio no significativo ($P=0.2$), y la línea de correlación explica el 7% de los datos. Esto sugiere que el patrón de diferenciación entre las poblaciones de *C. mydas* para el área del Caribe Occidental, no se ajusta a un

modelo simple de aislamiento por distancia. No sorprende ya que se observa una distribución geográfica no lineal.

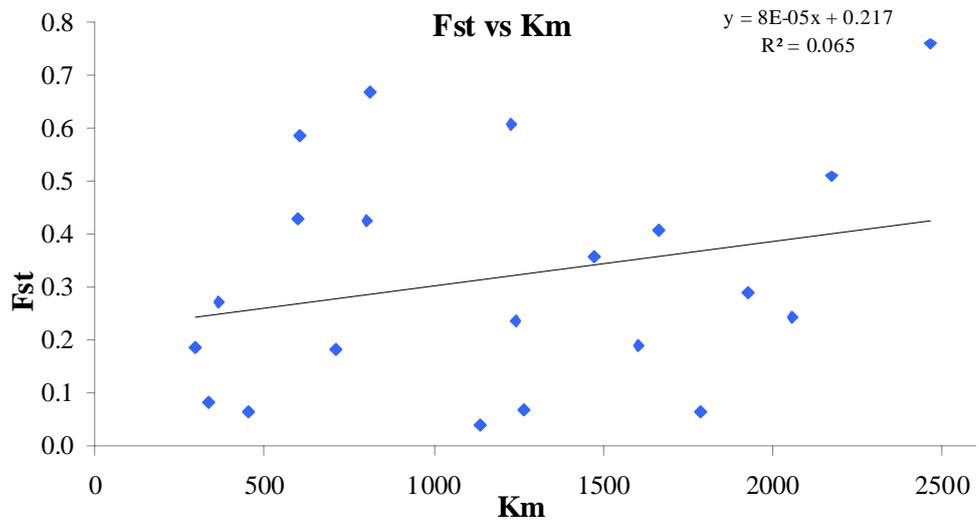
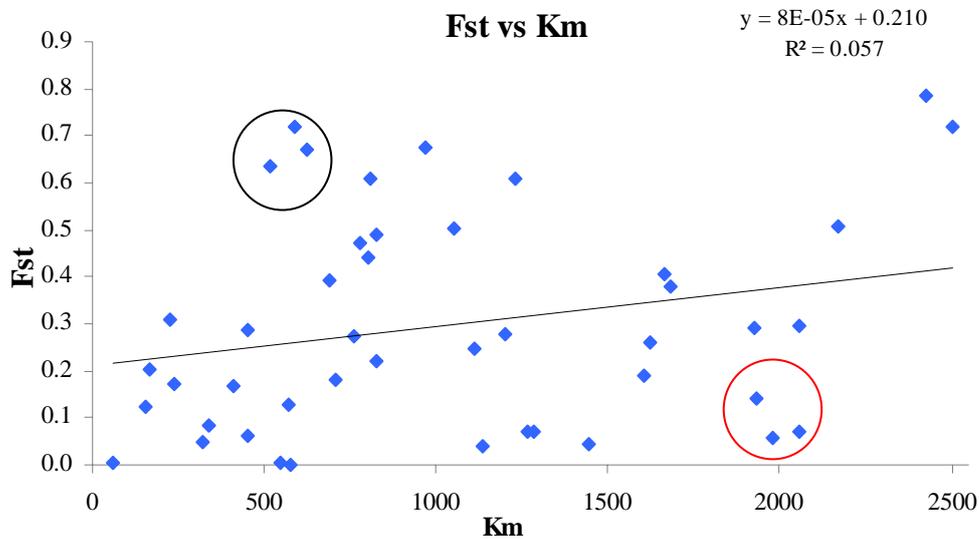


Fig 11a-b. Diferenciación genética entre las poblaciones de *C. mydas* por un modelo de aislamiento por distancia, abarcando las colonias desde Florida hasta Costa Rica. (a) Tomando todas las poblaciones del Caribe Oriental separadas (Florida, Rancho Nuevo, Veracruz, IC-IA, Sb-Che, cayo Arcas, El Cuyo, Alacranes, QR/Enc y Costa Rica), el valor de probabilidad estadística fue no significativo ($P=0.124$); (b) considerando las UM identificadas en la misma región, agrupando Rancho Nuevo con Veracruz y las colonias continentales de Campeche y Yucatán, el valor de probabilidad fue no significativo ($P=0.2$).

7.6. Contribución de las UM a los sitios de agregación marina regionales.

7.6.1. Análisis de Stocks Mezclados.

Para conocer la contribución de las colonias de tortuga verde analizadas en este trabajo a sitios de alimentación en hábitats marinos del Atlántico, se aplicó el análisis de stocks mezclados para ocho sitios de alimentación evaluados previamente [Carolina del Norte (Bass *et al.*, 2006); Florida (Bass y Witzell, 2000); Bahamas (Lahanas *et al.*, 1998); Barbados (Luke *et al.*, 2004); Nicaragua (Bass *et al.*, 1998); A. Rocas (Bjorndal *et al.*, 2006); Almofala y Ubatuba (Naro-Maciel *et al.*, 2007)]. Los primeros cinco se ubican dentro del Gran Caribe, y los restantes en frente de Brasil. En este análisis fue usada la nueva información de composición haplotípica para las UM identificadas en este estudio para derivar la mejor estimación posible de los niveles reales en que éstas contribuyen a los diferentes sitios. Con esto también se pretende comparar los resultados con la nueva información a las estimaciones que se han publicado y que probablemente subestiman la contribución de poblaciones mexicanas. Se realizó usando diferentes métodos para lograr una comparación amplia del aporte de las poblaciones del golfo de México. Como referencia se muestran los valores publicados en los estudios originales (Tabla 15), pero la comparación sería complicada porque anteriormente no se conocían los perfiles haplotípicos de colonias mexicanas del golfo de México, sino solamente datos de dos colonias de Quintana Roo, en el Caribe mexicano. Además, desde que se hicieron esos estudios a la fecha, nuevas investigaciones han aportado valores de composición haplotípica para colonias adicionales. Para contar con un panorama comparativo más realista, las contribuciones fueron estimadas bajo tres modalidades de análisis de stocks mezclados en el paquete de software “Mixstock” (Bolker *et al.*, 2007): (1) el protocolo tradicional de máxima verosimilitud (opción UML) y bajo el protocolo de “Many-to-many” en dos modalidades (2) sin considerar los tamaños de las poblaciones (en términos de hembras/año) y (3) con los datos de tamaños.

En los resultados del análisis de la contribución de cada colonia de anidación a los distintos sitios de agregación en la cuenca Atlántica y aplicando el método UML, se notaron aportaciones de las colonias del golfo de México a varios sitios de alimentación (Figuras 12 a-h). La contribución más significativa es de la UM de CmCu al sitio de agregación marina de Florida (25%), seguido de RNVer en la de Barbados (12%). El

resto de las aportaciones de las UM del golfo de México son mínimas o nulas a los sitios localizados en el Atlántico Sur Central.

Al realizar este mismo análisis pero utilizando el método “Many-to-many” para dar una perspectiva de la contribución de las fuentes a cada sitio (enfoque conocido como “foraging-ground centric” en el programa; Bolker *et al.*, 2007) y sin considerar los tamaños poblacionales, se nota que aumentan considerablemente las contribuciones de las colonias del golfo mexicano a los distintos sitios de alimentación. La mínima fue de un 1% de cada UM al sitio de Ubatuba, y la máxima de un 33% de cayo Arcas al sitio ubicado en las costas de Nicaragua. Debido a errores generados durante el remuestro en los cálculos de las contribuciones a través del método UML, no se pudieron obtener los valores de los intervalos de confianza para ningún sitio de alimentación, excepto para Carolina del Norte (Figura 12a), mostrándose para fines ilustrativos demostrando que los intervalos de confianza disminuyen considerablemente en el análisis con el método Many-to-many. Cuando incorporamos a este análisis los tamaños de las poblaciones (Tabla 16), se observa una disminución en el aporte de las colonias del golfo de México a los sitios ubicados dentro del Gran Caribe, compensado con el aumento de la contribución por parte de Costa Rica, por mucho la colonia de *C. mydas* más grande en la cuenca Atlántica que es 12 veces mayor que la más grande que anida en el golfo de México (la UM de RNVer). Se debe tomar especial atención al hecho que las dos colonias insulares del golfo de México, y también las más pequeñas y con el número de muestra menor de todas las UM identificadas, que aparecían con contribuciones sustanciales o de las más altas, expresan una contribución mínima o nula (en el caso de cayo Arcas) cuando se consideran los tamaños poblacionales. No sorprende que al tomar en cuenta lo pequeño de las poblaciones se mitigue la contribución estimada, sin embargo se toma nota de que la composición de estas colonias es reflejada en algunos de los sitios de alimentación y podría ser que el programa sobre-compense bajo esta modalidad. Por ejemplo, por parte de la colonia de Alacranes se observa un aporte hacia el sitio de Carolina del Norte, esto por la evidencia del haplotipo CM-A27 del que ahora se sabe se encuentra en esa colonia mexicana. En la región del Atlántico Sur se muestra el mismo patrón de contribución con los dos métodos, notándose el mayor aporte por parte de las colonias de Brasil, Isla Ascensión y África hacia los sitios ubicados en Brasil. Al hecho de que a través del método Many-to-many sin considerar y considerando los tamaños de las poblaciones, se observe una contribución, aunque mínima, por parte de colonias mexicanas y en general de

poblaciones geográficamente muy distantes, hacia los sitios de agregación del Brasil, es atribuido a que en ellos se presentan los haplotipos CM-A3 y CM-A5 presentes de igual manera en las poblaciones del golfo de México y Gran Caribe, y el programa no considera la distancia entre los sitios y las colonias, por ello, con base a las frecuencias haplotípicas, arroja una aparente contribución.

Una nueva perspectiva disponible a partir del método Many-to-many, es que también se puede realizar una estimación de la manera en que cada colonia se distribuye entre los sitio de alimentación estudiados (Figuras 13 a-k). O sea una evaluación desde “la perspectiva de cada colonia” (“rookery-centric”). Sin considerar los tamaños poblacionales, se observó que, en general, los individuos de las UM del golfo de México se alimentan, en un mayor porcentaje, en los sitios ubicados dentro del Gran Caribe y en menor medida en los del Atlántico Sur, notándose también que el programa estima que alrededor del 10% de las poblaciones, en cada caso, se dirigen a sitios fuera del universo de sitios analizados. Al incorporar los tamaños de las colonias en las evaluaciones, se observa un comportamiento similar, con mínimas diferencias en la mayoría de los casos. Con respecto a cayo Arcas, la contribución a Nicaragua disminuye considerablemente cuando se integra el tamaño de la población. De los individuos de las colonias del Gran Caribe, los que presentan un mayor aporte a sitios de alimentación desconocidos, son los de las unidades de RNVer y de QR/Enc cuando no se toma en cuenta el tamaño de las mismas. La colonia de Chipre, por tener en su composición haplotipos que no se encuentran en ninguna otra colonia o sitio de alimentación, contribuye casi en su totalidad a sitios de agregación desconocidos.

En general, los resultados a través de los diferentes métodos indicaron, al incorporar los datos de composición genética de las UM del golfo de México que anteriormente se desconocían y en relación a los trabajos ya publicados de los sitios de alimentación (Bass *et al.*, 1998; Bass *et al.*, 2006; Bass y Witzell, 2000; Lahanas *et al.*, 1998; Luke *et al.*, 2004; Naro-Maciel *et al.*, 2007), se observó una contribución global de 10 a 64% (a través del método Many-to-many sin considerar los tamaños de las poblaciones y tomando todas las colonias del golfo de México como una sola población para fines comparativos) y una de 3 a 29% tomando a consideración los tamaños poblacionales (Tabla 16). Se notó una generalizada disminución en el aporte de las colonias ubicadas dentro del Gran Caribe a los sitios de alimentación dentro de la misma región, al incorporar los datos de composición haplotípica de las colonias del golfo de México en relación a lo publicado. Sin embargo, cuando se incluye el tamaño

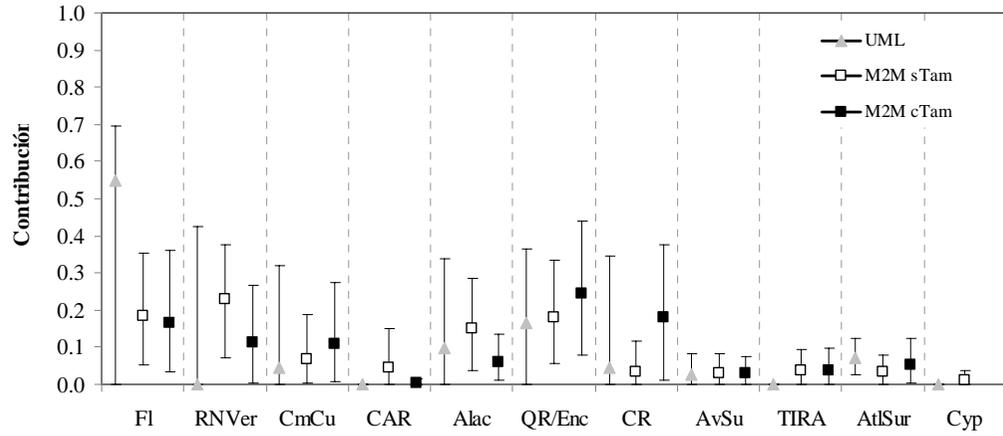
poblacional, la contribución sigue siendo considerable pero disminuye, aumentando la de colonias grandes, p. ej. Costa Rica. Los resultados no sólo permiten dar seguimiento a un mayor número de UM, sino que también representan un incremento significativo en las estimaciones de la contribución de poblaciones mexicanas a los sitios de agregación marina en el Atlántico. Anteriormente se estimaban contribuciones de “Mexico”, cuando en realidad la caracterización era de la colonia de Quintana Roo (Encalada *et al.*, 1996) que contribuía entre 0.5 y 18%.

En los estudios realizados por otros autores sobre las mezclas de stocks en sitios de alimentación en el Atlántico, se han planteado tres hipótesis para explicar los fenómenos que mayormente definen los niveles de contribución de las distintas colonias: (1) el tamaño de las fuentes (Bass *et al.*, 1998; Lahanas *et al.*, 1998); (2) la distancia entre las fuentes y los sitios de alimentación (Bass y Witzell, 2000); y (3) patrones de las corrientes marinas (Luke *et al.*, 2004). Estas hipótesis se tratarán más adelante en la sección de Discusión.

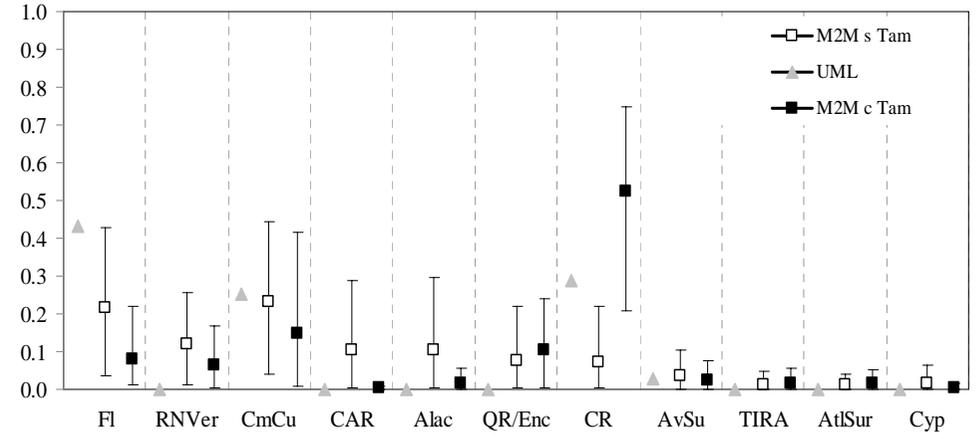
Tabla 15. Tamaños de las poblaciones de tortuga verde (hembras/año) de acuerdo a las UM identificadas en este estudio.

Unidad de Manejo	Tamaño poblacional (hembras/año)	Referencia
Florida	779	Bellini y Sanchez, 1996; Bellini <i>et al.</i> , 1996; Broderick <i>et al.</i> , 2002; Formia, 2002; Seminoff, 2002.
RNVer	711	CONANP, datos no publicados
CmCu	1,410	CONANP, datos no publicados
Cayo Arcas	100	CONANP, datos no publicados
Alacranes	333	CONANP, datos no publicados
QR/Enc	1,587	Bellini y Sanchez, 1996; Bellini <i>et al.</i> , 1996; Broderick <i>et al.</i> , 2002; Formia, 2002; Seminoff, 2002.
Costa Rica	26,535	Bellini y Sanchez, 1996; Bellini <i>et al.</i> , 1996; Broderick <i>et al.</i> , 2002; Formia, 2002; Seminoff, 2002.
AvSu	2,081	Bellini y Sanchez, 1996; Bellini <i>et al.</i> , 1996; Broderick <i>et al.</i> , 2002; Formia, 2002; Seminoff, 2002.
TIRA	3,115	Bellini y Sanchez, 1996; Bellini <i>et al.</i> , 1996; Broderick <i>et al.</i> , 2002; Formia, 2002; Seminoff, 2002.
AtlSur	6,729	Bellini y Sanchez, 1996; Bellini <i>et al.</i> , 1996; Broderick <i>et al.</i> , 2002; Formia, 2002; Seminoff, 2002.
Chipre	100	Bellini y Sanchez, 1996; Bellini <i>et al.</i> , 1996; Broderick <i>et al.</i> , 2002; Formia, 2002; Seminoff, 2002.

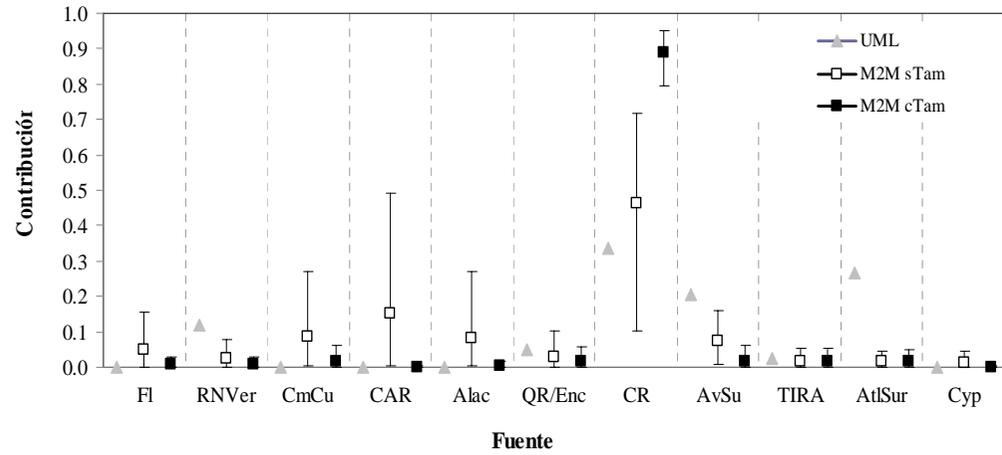
Carolina del Norte



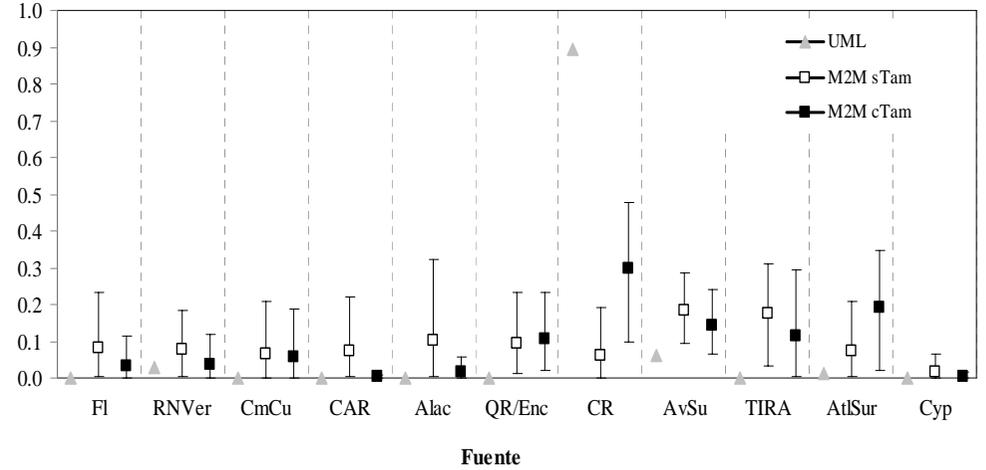
Florida



Bahamas



Barbados



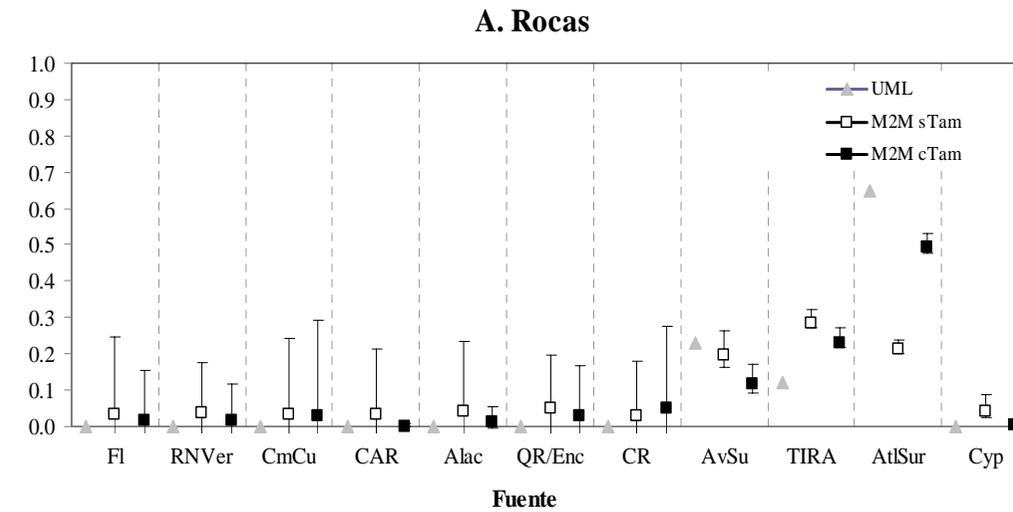
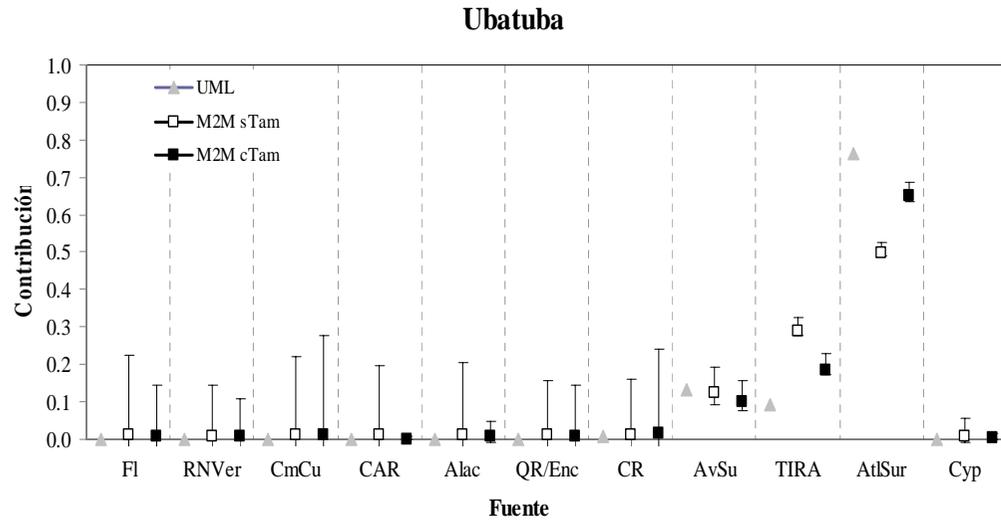
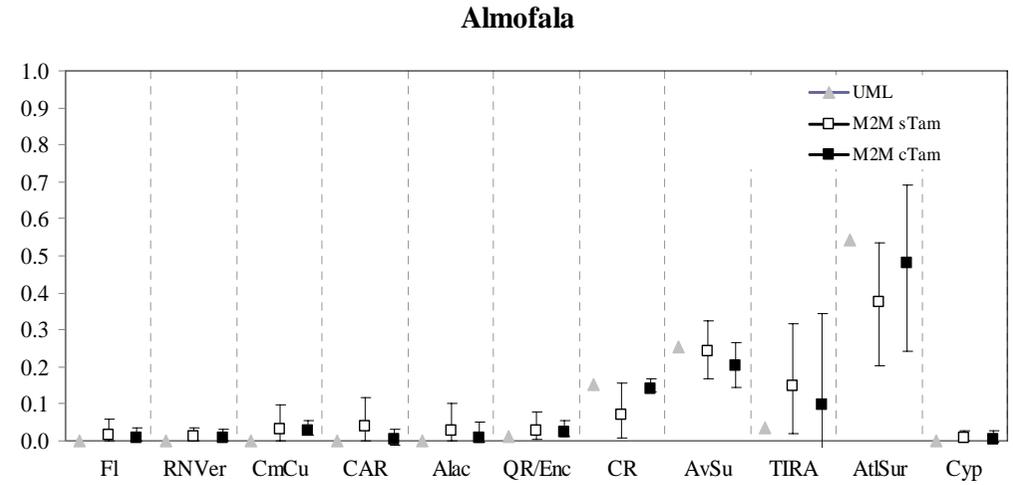
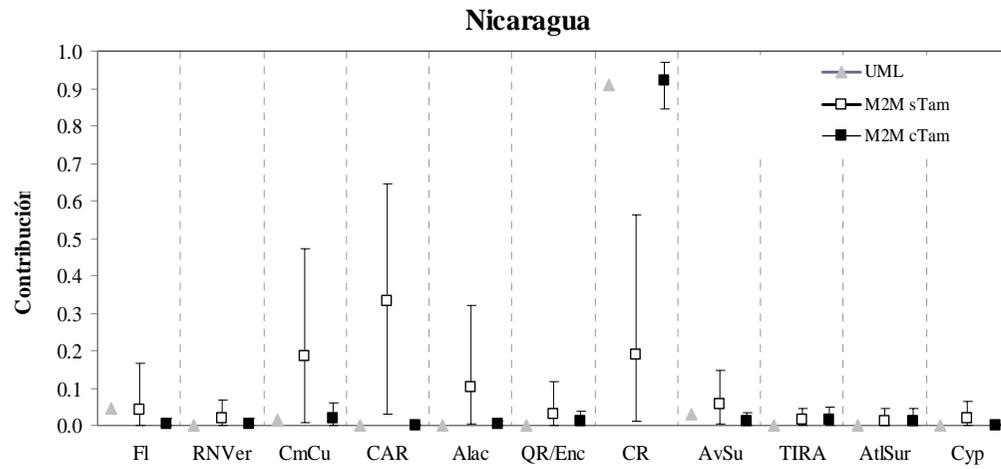
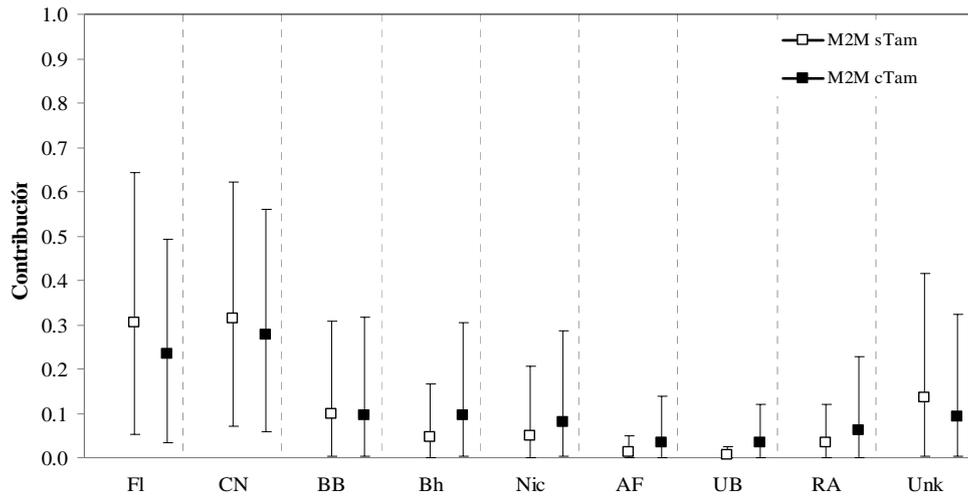
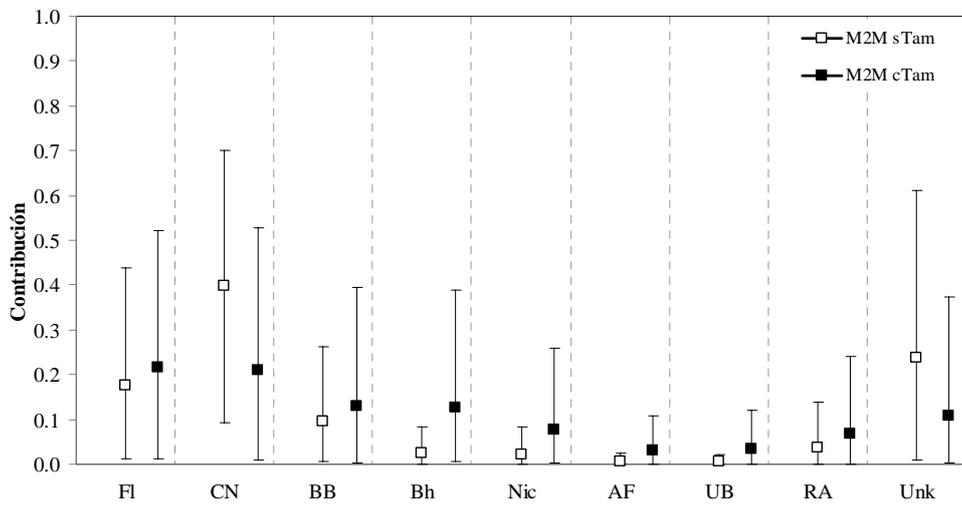


Figura 12 a-h. Resultados del Análisis de Stocks Mezclados usando los métodos UML (triángulos grises) y Many-to-many, este último bajo dos modalidades: (1) sin considerar las abundancias (cuadros blancos) y (2) considerándolas (cuadros negros) midiendo la contribución de todas UM identificadas a cada sitio de alimentación del Atlántico (enfoque “foraging-ground centric”). Las barras representan los intervalos de confianza del 95%.

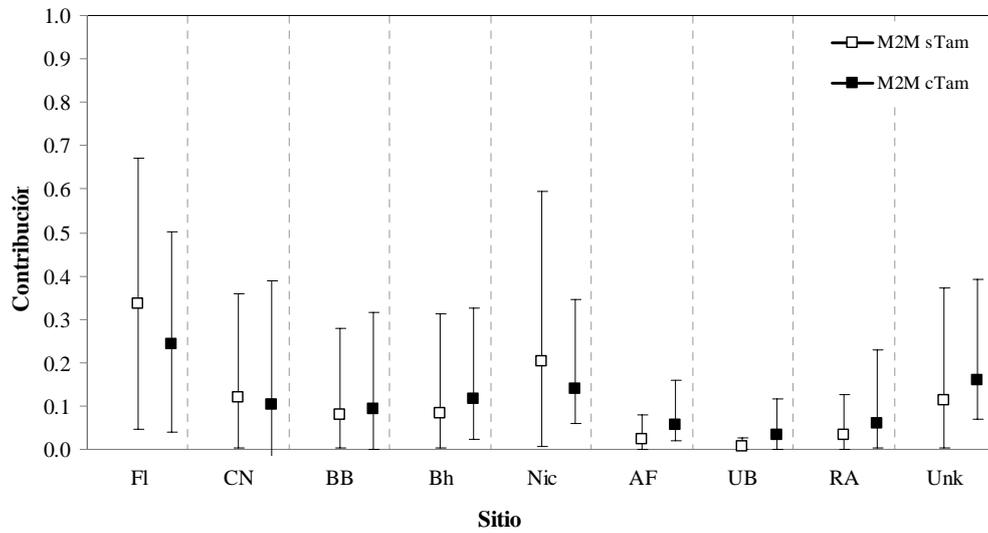
Florida



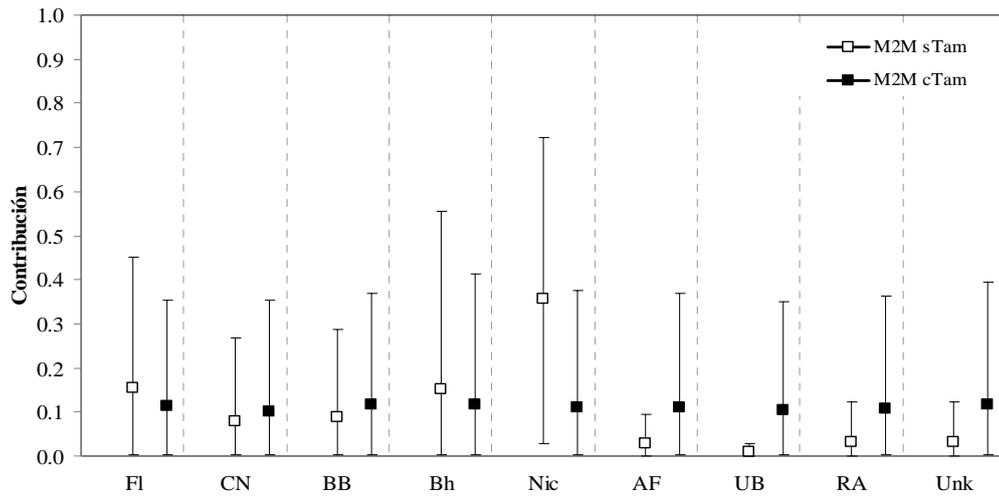
RNVer



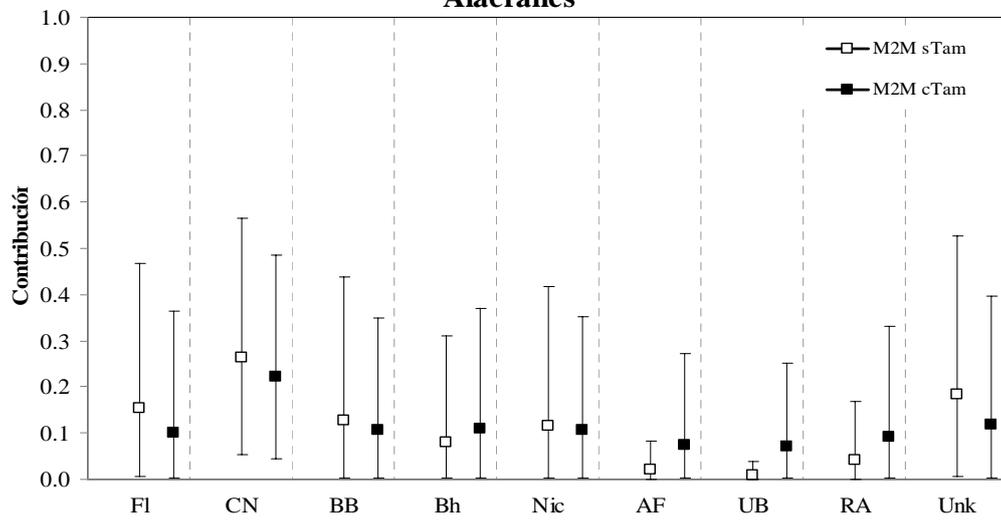
CmCu



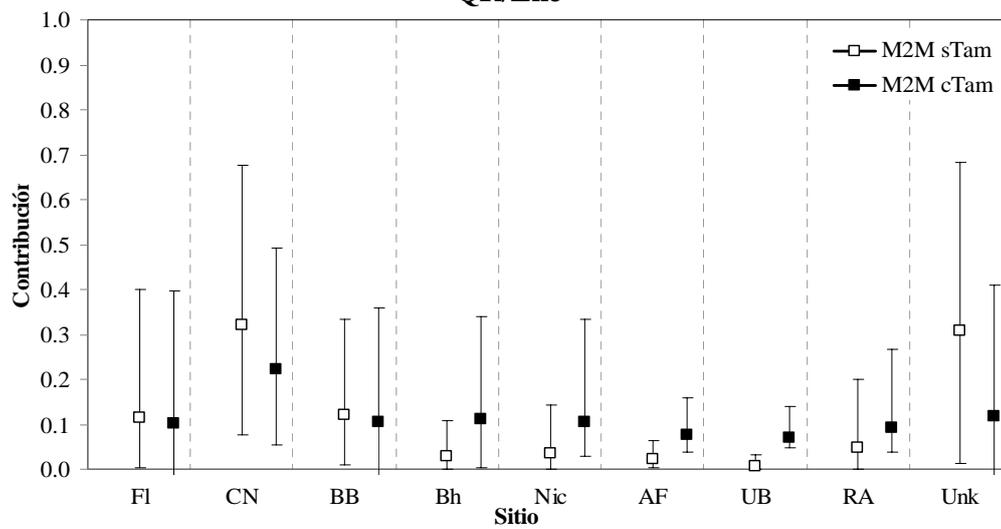
Cayo Arcas



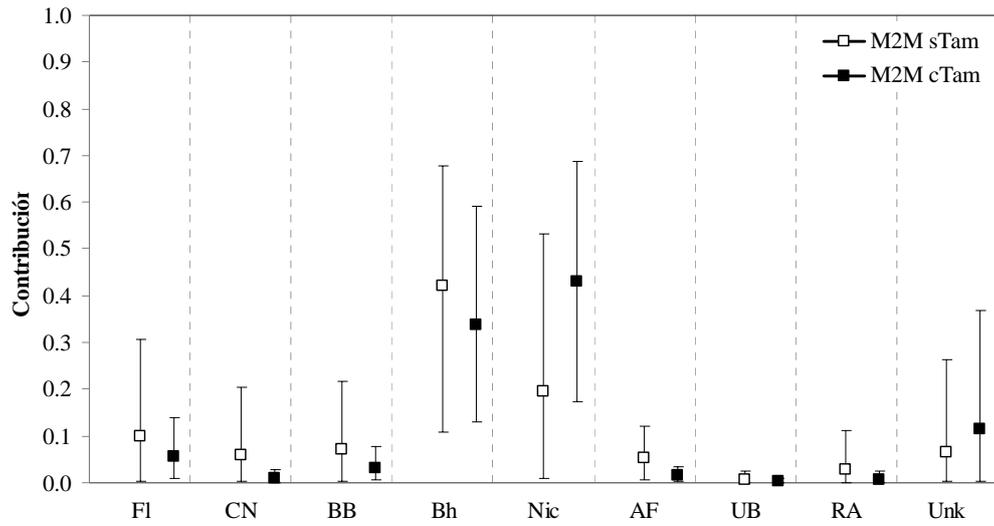
Alacranes



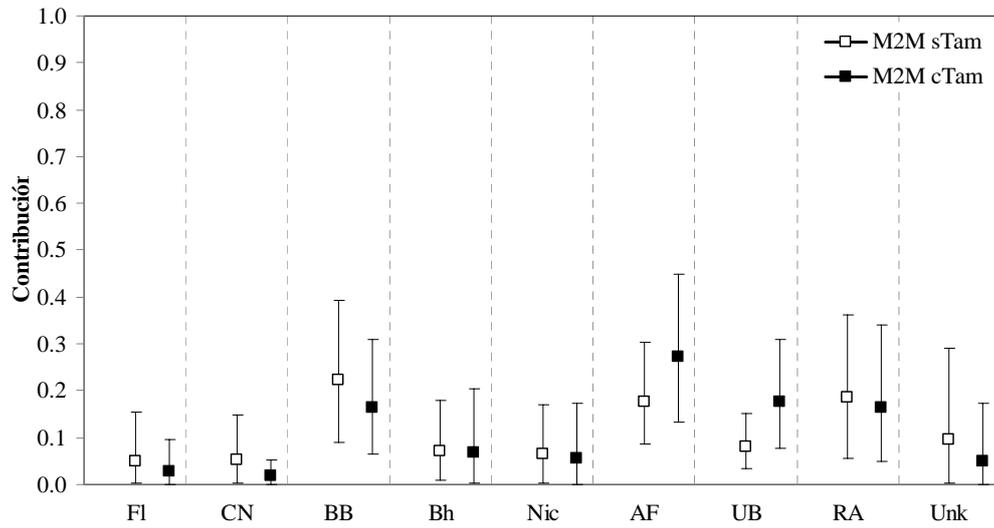
QR/Enc



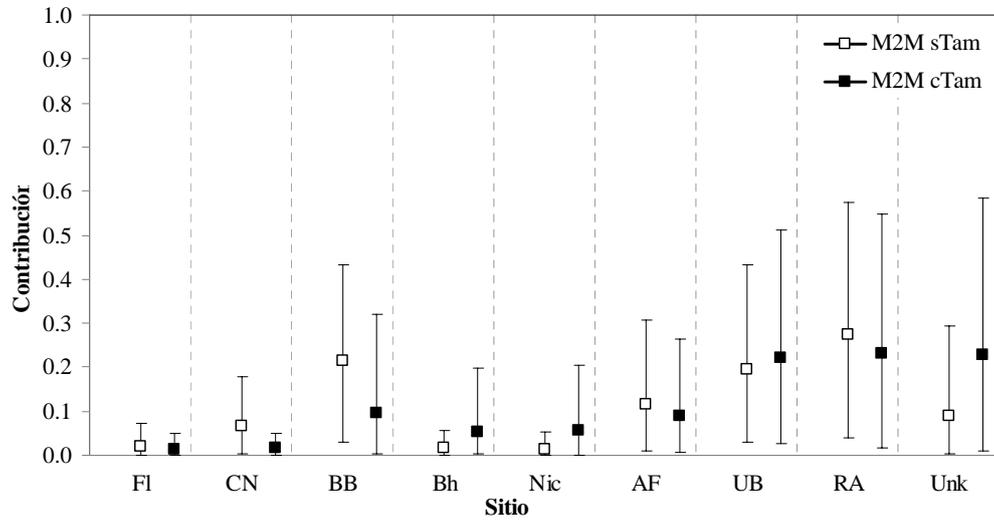
Costa Rica



AvSu



TIRA



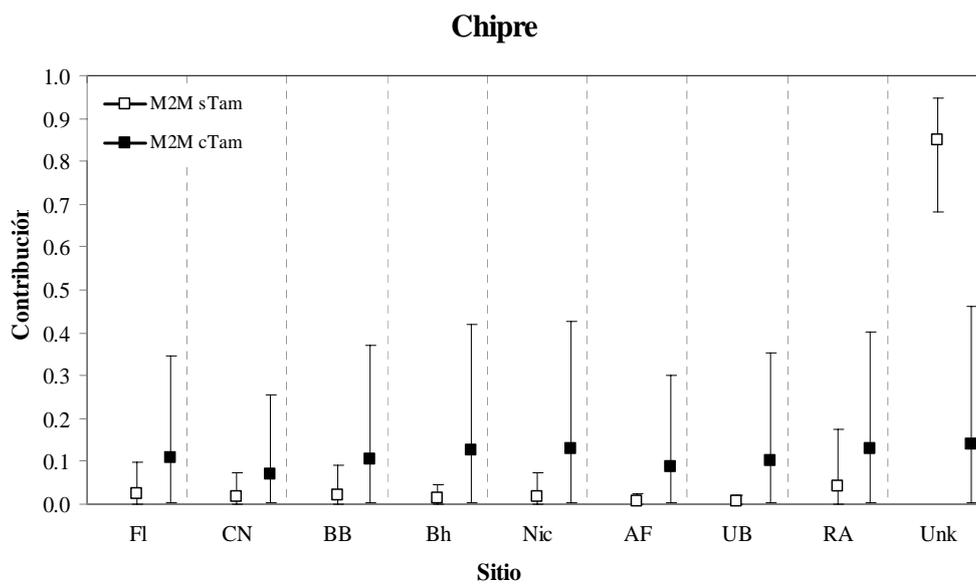
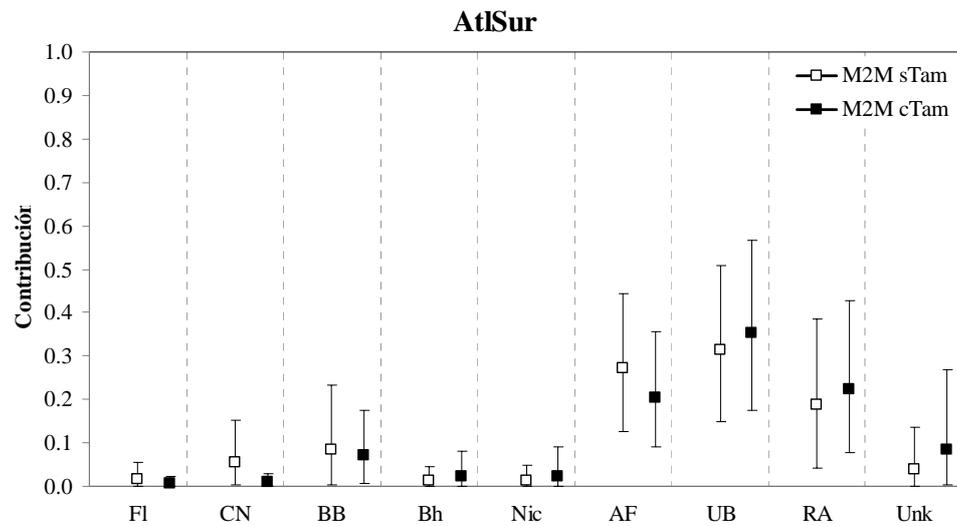


Figura 13 a-k. Resultados del Análisis de Stocks Mezclados usando el método Many-to-many bajo dos modalidades: (1) sin considerar las abundancias (cuadros blancos) y (2) considerándolas (cuadros negros) midiendo cuánto contribuye cada UM a todos los sitios de alimentación del Atlántico contemplando los desconocidos (Unk; enfoque “rookery centric”). Las barras representan los intervalos de confianza del 95%. Donde: FI (Florida); CN (Carolina del Norte); BB (Barbados); Bh (Bahamas); Nic (Nicaragua); AF (Almofala); UB (Ubatuba); RA (Atolón Rocas); Unk (desconocidos).

8. DISCUSIÓN.

8.1. Caracterización genética de las poblaciones.

A pesar de que los desarrollos tecnológicos han posibilitado el estudio y secuenciación del genoma del ADN mitocondrial, molécula circular de ~16 kilobases (kb) de manera rutinaria, un segmento específico del ADNmt, la región no codificadora o región control (RC; ~1 kb) continúa siendo ampliamente usada debido a su elevada tasa de mutación que ofrece amplia capacidad para distinguir entre poblaciones de una misma especie. Secuencias específicas dentro de la región control (RC) evolucionan más rápidamente y han sido de especial utilidad para identificar diferencias entre secuencias estrechamente relacionadas, brindando una alta resolución de estructura poblacional reciente (Stoneking *et al.*, 1991). De los tres segmentos identificados como hipervariables en la RC de mamíferos (HVS I, HVS II y HVS III), dos de ellos, el HVS II (abarca las posiciones 73-340) y el HVS III (posiciones 438-574), son incluidos en el segmento analizado en este estudio y se demuestra que para tortugas marinas también contienen polimorfismos que anteriormente se desconocían para la especie.

El uso de secuencias del ADN mitocondrial como marcador molecular para el análisis de genealogía de genes, ha proporcionado una gran resolución a nivel intraespecífico, a diferencia de los primeros ensayos realizados con aloenzimas que demostraron dar poca variabilidad (Zink *et al.*, 1991; Avise, 2000) o de los que fueron basados en RFLPs (Bowen *et al.*, 1992). Estos métodos aplicando marcadores mitocondriales forjan un puente empírico y conceptual entre los dominios de la macroevolución (filogenética tradicional) y la microevolución (ecología y genética de poblaciones; Avise, 2004).

Las proporción de sustituciones nucleotídicas obtenida en la red de haplotipos, corresponde a lo reportado para la especie (Lahanas *et al.*, 1994), encontrando niveles altos de A y T, y bajos niveles de G y C, lo cual coincide con lo reportado para secuencias de la región control de otras especies de vertebrados en las que se ha observado deficiencias de G y C (Saccone, *et al.*, 1987; Brown, *et al.*, 1993; Wenink, *et al.*, 1994; Sang, *et al.*, 1994; Arnason, *et al.*, 1993; Stewart, *et al.*, 1994). La tasa de transiciones/transversiones 10:1 reportada para *C. mydas* (Lahanas, *et al.*, 1994) concuerda con la encontrada en este estudio. Aunque la tasa del tipo de mutaciones varía entre los distintos vertebrados, en general las transiciones son mucho más

comunes que las transversiones. Esta misma proporción de 10:1 se observa en las tres especies de manatíes distribuidas a lo largo de la región tropical y subtropical de América y la costa oeste de África (Vianna *et al.*, 2006).

En este estudio, el análisis de la longitud total de las secuencias obtenidas identificó apenas un nuevo sitio polimórfico que permitió subdividir los haplotipos CM-A1 y CM-A18 en dos cada uno (sección Resultados). Sin embargo, la utilidad de esta variación aun no puede ser aplicada toda vez que el resto de los estudios genéticos disponibles usan un segmento (interno al que nosotros evaluamos) mucho más corto (aprox 483 pb) y, por lo tanto, para los fines de esta discusión, los datos se ciñen a este marco de lectura. Sin embargo, se espera que en el futuro, conforme se difunda el uso de nuestros oligos se puedan derivar análisis regionales con el segmento completo de la RC. Para facilitar la discusión de aquí en adelante (a menos de que la discusión lo requiera) se hará referencia solamente al “A1” y al “A18”.

En el presente trabajo no se encontraron los haplotipos CM-A15, CM-A16 y CM-A17 reportados por Encalada *et al.* (1996) para México, y que solamente han sido encontrados adicionalmente en sitios de alimentación de Carolina del Norte (Bass *et al.*, 2006), Almofala (Naro-Maciel *et al.*, 2007) y Barbados (Luke *et al.*, 2004). Se han sugerido como endémicos de las poblaciones de tortuga verde mexicanas, pero a partir del presente estudio se concluiría que se concentran exclusivamente en colonias de Quintana Roo.

Los dos haplotipos más representados de *C. mydas* tanto en colonias de anidación como en agregaciones en sitios de alimentación de la región del Gran Caribe (CM-A1 y A3; Encalada *et al.*, 1996), también fueron los más frecuentes en las colonias del golfo de México. Es interesante que en esta región aparecen con una distribución clinal de occidente a oriente. Este resultado es muy similar al patrón clinal del par de haplotipos CM-A3 vs –A5 reportado por Bjorndal *et al.* (2005) para las poblaciones evaluadas hasta ese momento para la región del Gran Caribe cuya proporción cambia en la dirección oriente (predominancia de A3) –occidente (predominancia de A5).

Por otra parte, la presencia del haplotipo CM-A5 que ha sido reportado en altas frecuencias en colonias de la región occidental del Gran Caribe (Costa Rica, Bjorndal *et al.*, 2005; y Aves y Surinam, Encalada *et al.*, 1996), en un solo individuo en el estudio realizado en las colonias de Quintana Roo (Encalada *et al.*, 1996) y con una presencia relativamente mayor dentro del golfo de México, pero específica y exclusivamente en cayo Arcas y en arrecife Alacranes (0.07 y 0.13, resp.) podría reflejar algún nivel de

flujo génico incipiente. Las implicaciones e interpretaciones de posibles patrones de flujo génico a nivel regional son discutidas más adelante.

La presencia del haplotipo nuevo CM-A58 solamente en una colonia del golfo de México, sugiere que se trate de una mutación reciente y, dado que no ha sido reportado en ningún otro estudio de la región a pesar de contener su sitio divergente dentro del marco de lectura tradicional (483 pb), podría ser indicativo que esta mutación ocurrió localmente. Además, el cambio mutacional (de Timina a Citocina) entre este haplotipo y el más cercano (CM-A15) confirma la proporción 10:1 de transiciones sobre transversiones para la región no codificadora del ADNmit.

Es difícil explicar la presencia de dos haplotipos raros (poco comunes y en baja frecuencia) exclusivamente en las colonias de cayo Arcas (haplotipo CM-A47) y Alacranes (haplotipo CM-A27). Sin embargo, un acercamiento a los procesos implicados se puede lograr al considerar de manera simultánea los valores de ambos parámetros de diversidad genética (h y π) para estas poblaciones dentro del contexto del resto de las colonias del Atlántico y Mediterráneo (Tabla 12, sección Resultados). Parte de la razón de que estas colonias insulares hayan tenido valores elevados de diversidad genética, únicamente comparados con los obtenidos para Quintana Roo, es debido a la presencia de haplotipos que se ubican en más de un linaje (discutido más adelante). Allard *et al.* (1994), explican que cuando poblaciones pequeñas presentan niveles de diversidad haplotípica relativamente altos, la explicación más sencilla es considerarlas como sumideros; esto es que se desarrollan a partir de la contribución de otras colonias, como lo consideró para la población de Florida. Este fenómeno también lo menciona Avise (2000) como base para valores simultáneamente altos de diversidad haplotípica y nucleotídica y se considera aplicable a los resultados de las colonias de cayo Arcas y Alacranes. En ambos casos, la ubicación geográfica de las colonias (únicas insulares en el golfo de México) las expone a factores oceanográficos como el sistema de corrientes marinas. De ser comprobado este fenómeno en dichas colonias, explicaría la presencia de haplotipos singulares como consecuencia de que funcionan como sumideros.

Diversos estudios han demostrado que poblaciones insulares presentan características especiales y que propician un alto grado de endemismo haplotípico. El trabajo de Encalada *et al.* (1996) para Quintana Roo podría ser representativo de este fenómeno, ya que manifiesta 3 haplotipos endémicos, formando la población con mayor nivel de diversidad haplotípica ($h=0.816$) registrada para *C. mydas*. Sin embargo, a pesar de que una de las dos colonias analizadas fue de la isla de Cozumel al no

distinguir los valores individuales de las dos colonias muestreadas (la segunda fue de una playa continental, en Xcacel) es difícil lograr conclusiones definitivas. Entre los resultados para las colonias analizadas en las costas de África por Formia *et al.* (2006), también se encontró que colonias con tamaños poblacionales pequeños manifestaron el mayor grado de endemismo y valores más altos de diversidad nucleotídica. Por ejemplo, Sao Tome y Príncipe, islas ubicadas en la costa occidental, presentaron valores de π de 0.003 y 0.001, respectivamente. Otra isla analizada en este mismo trabajo, pero en el Océano Índico, fue Comoros que en una $n=10$ presentó 3 haplotipos, todos endémicos, obteniendo y de los valores más altos de h (0.733) y π (0.0261) para la especie.

Otra colonia insular con alto endemismo haplotípico, pero que manifiesta un comportamiento distinto a los descritos anteriormente, es Isla Ascensión, situada en medio del Atlántico Sur y expuesta a la Corriente Ecuatorial, la más intensa de la región. En su estudio, Formia *et al.* (2007) encontraron 13 haplotipos en un total de 245 muestras, 5 de ellos endémicos, y una diversidad haplotípica comparativamente baja ($h=0.307$), aunque coincidente con la reportada por Encalada *et al.* (1996) en su análisis de 20 muestras de esta misma colonia. El tamaño de muestra del estudio actual aumentó considerablemente, pero el haplotipo CM-A8 retuvo una frecuencia mayoritaria (83%) siendo el mejor representado en las colonias del Atlántico Sur, y en menores porcentajes los 12 haplotipos restantes. Por lo tanto, mientras más aumente el número de muestra, aumenta la probabilidad de obtener los haplotipos endémicos, sin que se afecte la predominancia del haplotipo CM-A8. Esto ocasiona que la diversidad haplotípica disminuya, pero la nucleotídica aumente por las nuevas diferencias interhaplotípicas encontradas.

Sin embargo, la incidencia de endemismos también ha estado asociada con tamaños de muestra. Otra colonia para la cual se ha incrementado el número de muestras es la de Tortuguero, en Costa Rica (Bjorndal *et al.*, 2005). Al incrementar considerablemente y para diferentes años, se encontró un incremento en el número de haplotipos endémicos. No obstante, tanto la diversidad haplotípica como la nucleotídica permanecieron bajas y el haplotipo predominante, ampliamente distribuido en las colonias del Gran Caribe (CM-A3) persistió con un porcentaje mayoritario. Aunque la diferenciación genética entre Tortuguero y las demás colonias se mantuvo (o incrementó para algunas comparaciones), el incremento muestral reveló haplotipos de linajes y orígenes distantes, lo que provoca una reducción del grado de estructuración por zonas geográficas para los linajes (Bjorndal *et al.*, 2005).

No obstante lo anterior, y a pesar de que los valores de diversidad genética de las poblaciones del golfo de México están dentro de la gama de valores observados para la misma especie en colonias del Atlántico y Mediterráneo, con índices más altos en las colonias insulares y bajos en las poblaciones de playas continentales, son proporcionalmente bajos en relación a las poblaciones de tortuga verde en la región de Australasia (Dethmers *et al.*, 2007) cuyo valor de π fue particularmente alto (0.040), en tanto que el valor de h resultó comparable al obtenido por Encalada *et al.* (1996) para Quintana Roo. En comparación a otras especies de tortugas marinas, en un estudio realizado para *Caretta caretta*, *Eretmochelys imbricata* y *C. mydas* (Reece *et al.*, 2005), se encontraron niveles altos de diversidad genética, tanto haplotípica ($h=0.830$) como nucleotídica ($\pi=0.01$) para la tortuga verde comparado con registrados en otros estudios incluyendo el presente, pero no comparado con las otras dos especies. Esto porque las muestras analizadas correspondían a una compilación de las colonias del Atlántico y Mediterráneo, pero los valores reportados para cada colonia independiente, corresponden a los registrados para las mismas colonias en este estudio. Se observaron niveles altos de diversidad haplotípica para las poblaciones de México y Brasil, y bajos para Guinea Bissau, Chipre y Costa Rica. Por otra parte, también se detectaron haplotipos endémicos para *C. mydas* en las poblaciones individuales, y los parámetros de diversidad genética fueron más similares a los de la tortuga carey que a los de caguama.

8.2. Modelo de sustitución nucleotídica aplicado al conjunto de secuencias obtenidas.

Con la finalidad de tener un mayor entendimiento de las relaciones de los haplotipos entre sí, el análisis de las secuencias se reforzó con la búsqueda del mejor modelo evolutivo a través del programa MODELTEST empleado por otros autores para los mismos fines en sus regiones estudiadas. Para las poblaciones de tortuga verde en la región de Australasia (Dethmers *et al.*, 2007), aplicando el criterio de hLRT, el modelo empleado fue el TrN+G+1 (Tamura-Nei tomando en cuenta la corrección Gamma y los sitios invariables). Sin embargo, ese mismo modelo fue elegido como el mejor modelo evolutivo para el análisis de secuencias de las poblaciones de las tortugas gigantes de las Galápagos en las colonias Sierra negra y Cerro azul, pero aplicando el criterio de AIC (Ciofi *et al.*, 2006).

Para el análisis de diferenciación genética interpoblacional, no siempre se encuentra el mismo modelo de sustitución dentro de los que ofrece el programa a utilizar. En su estudio de las poblaciones de 3 especies de manatíes a lo largo de las costas del Atlántico Americano y África (Vianna *et al.*, 2007), encontraron que el mejor modelo evolutivo basado en el criterio de AIC fue HKY85 (Hasegawa, Kishino y Yano, 1985), considerando una frecuencia distinta de las bases, y de la tasa transiciones/transversiones), pero debido a las limitantes del software donde realizarían los análisis de diferenciación, concluyen que el modelo de Tamura-Nei fue el indicado, ya que se desarrolla bajo los mismos supuestos que el elegido en el MODELTEST.

8.3. Diferenciación temporal y geográfica dentro y entre poblaciones.

Las evaluaciones de diferenciación temporal entre dos años seguidos arrojaron resultados variados para las pocas poblaciones donde se pudo analizar. Hubo una sola población (Isla Aguada) donde se detectaron diferencias significativas entre 2005 y 2006, pero se determinó agrupar los datos de las dos temporadas para el resto de los análisis toda vez que existen datos complementarios, por lo que sería improbable una estructuración temporal. En trabajos anteriores con tortuga verde, o no se ha detectado diferenciación interanual (Bjorndal *et al.*, 2005), o la que se encontró fue causada por problemas de tamaño de muestreo (Formia *et al.*, 2007). En la tortuga carey perfiles haplotípicos variables a lo largo de varios años (Velez-Zuazo *et al.*, 2008) resultó ser debido a errores de lecturas (LeRoux *et al.*, en prep). No obstante, se considera que los resultados no son conclusivos y se sugiere ahondar esta temática en futuros proyectos. Un rasgo de importancia que podría ser relevante para estos análisis está relacionado con la abundancia del haplotipos CM-A18, toda vez que no sólo aparentó un aumento relativo en I. Aguada entre el 2005 y el 2006, sino también que, a diferencia del 2005, estuvo presente en la playa de Coyotes en el 2006. Aunado a esto, se nota que la frecuencia del haplotipos CM-A18 es máxima en la zona central de Campeche, y disminuye hacia el sur y hacia el este en Veracruz. De confirmarse variaciones temporales y, adicionalmente, en combinación particularmente con fluctuaciones en la proporción del haplotipos CM-A18.1 pudieran estar asociados dos procesos simultáneamente: una diferenciación entre cohortes que anidan en diferentes años y un proceso de introgresión de este haplotipos de Campeche hacia Veracruz.

Para el análisis de estructura poblacional para las distintas especies de tortugas marinas, se han aplicado diferentes modelos para evaluar diferenciación genética. En su estudio de las poblaciones de tortuga verde en regiones del Atlántico y Mediterráneo, Encalada *et al.* (1996) utilizan la prueba de independencia de chi-cuadrada (Sokal y Rohlf, 1981) a través del método Monte Carlo (Roff y Bentzen, 1989) para evaluar diferencias en las frecuencias haplotípicas entre pares de poblaciones. Ese mismo procedimiento fue utilizado para comparar las diferencias entre frecuencias de los haplotipos de las colonias de anidación y los sitios de alimentación de Brasil (Bjorndal *et al.*, 2006). La Prueba exacta de diferenciación ha sido utilizada para identificar unidades poblacionales entre las colonias de tortuga verde de Australasia por Dethmers *et al.* (2006) y por Naro-Maciel *et al.* (2006) para comparar entre tres distintos sitios de alimentación de *C. mydas* en Brasil. Sin embargo, otros autores usan en su lugar o adicionalmente modelos de distancias genéticas para evaluar diferencias entre sus poblaciones (Bjorndal *et al.*, 2005; Formia *et al.*, 2007).

No obstante, en los últimos años, las pruebas de diferenciación genética entre poblaciones son cada vez más sustentadas con la comparación entre los resultados arrojados a través de las diferencias medidas con base a las frecuencias haplotípicas solamente (e.g. F_{ST} convencional), y las obtenidas mediante un método de distancias genéticas seleccionado previamente de acuerdo a las secuencias analizadas (e.g. Φ_{ST}). En teoría, el uso de algoritmos basados en modelos de distancia genética es recomendable cuando las poblaciones por comparar son parte de linajes relativamente diferenciados ya que controlan posibles homoplasias. Sin embargo, cuando se analizan poblaciones cercanamente relacionadas (como en el presente estudio), involucrando haplotipos con escasas diferencias de nucleótidos (ver genealogía TCS) las diferencias inter-poblacionales se establecen inicialmente a través de variaciones en las frecuencias haplotípicas y pueden ser mejor evaluadas con modelos basados en diferencias de frecuencias. No obstante, el contar con ambas medidas, permite derivar una correlación entre ambos resultados e inferir sobre el proceso de aislamiento que se dio entre las poblaciones (Medrano-González, 2006).

En las comparaciones aplicando estos dos parámetros de diferenciación a las colonias del golfo de México, notamos resultados interesantes en los valores mismos y en las significancias. Si bien se vieron comparaciones pareadas consistentes con ambos métodos, se observaron valores no significativos bajo el modelo de Tamura entre colonias que comparten haplotipos de ambos linajes, aunque la frecuencia sea baja,

como cayo Arcas vs. Costa Rica, o Alacranes vs. QR/Enc, pero los valores de F_{ST} y de Φ_{ST} fueron muy similares.

Con la correlación entre ambos métodos y considerando todas las colonias del Gran Caribe (desde Florida hasta Surinam), observamos un grupo de comparaciones pareadas cuyo valor de Φ_{ST} es mayor que el de F_{ST} , indicativo de un flujo génico reciente entre poblaciones antiguamente aisladas. Curiosamente, en este grupo se encuentran las colonias del Gran Caribe Oriental (Costa Rica, Aves y Surinam) en relación a las del Gran Caribe Occidental (desde Florida hasta Quintana Roo). Estos resultados refuerzan más la interpretación de que la presencia del haplotipo CM-A5 en colonias de México proviene de un linaje distinto al de su localización actual. Los valores de F_{ST} y Φ_{ST} de cayo Arcas y Alacranes reflejan diferencias mínimas, sugiriendo que se trata de poblaciones aisladas a partir de una población homogénea. Algunas de estas combinaciones se presentan entre la colonia de Alacranes y cayo Arcas, Florida y El Cuyo, o entre Lechuguillas (agrupando las colonias de El Llano y Coyotes) y Farallón, a diferencia de otras, estos pares de poblaciones manifiestan proximidad geográfica, pero la presencia de haplotipos raros en unas de ellas provoca que el valor de Φ_{ST} sea ligeramente mayor al de F_{ST} , colocándolas como poblaciones aisladas, o bien, que debido al tamaño de muestra de algunas de ellas como Farallón (n=11) con respecto a Lechuguillas (n=87) es tan pequeño que el poder de la prueba estadística es igualmente bajo por lo que no se observan diferencias significativas.

Uno de los propósitos por el cual se emplean un método de diferenciación basado en frecuencias haplotípicas y otro que además incluye la diferenciación nucleotídica entre las secuencias, es para discernir entre ambos estadísticos para elegir aquel que proporcione mayor robustez al conjunto de datos analizados. Con cualquiera de los dos métodos usados para las pruebas de diferenciación, se encontró estructura en las colonias del golfo de México. Se observó una diferencia marcada entre las colonias ubicadas en la región occidental (poblaciones de Tamaulipas y Veracruz –con una máxima representación del haplotipo CM-A1-) y las del oriente (Campeche y Yucatán – con el haplotipo CM-A3 en frecuencias predominantes-), además de una particular diferenciación de las colonias de cayo Arcas y Alacranes. Estas mismas consistencias fueron observadas en los niveles de flujo génico (Nm) entre las poblaciones, manifestándose particularmente altos entre las colonias que no mostraron diferencias genéticas significativas.

Sin embargo, se notaron algunas incongruencias como la no diferenciación estadística entre colonias con un número pequeño de muestra con aquellas cuya composición estaba conformada por los haplotipos más representados del linaje pero alejadas geográficamente, como Farallón y Chenkán con Florida, o las colonias de Campeche con la población de Costa Rica. En este último caso también con valores elevados de flujo génico. En su estudio de la población de Tortuguero, Costa Rica, Bjorndal *et al.* (2005) estimaron bajos valores de Nm (< 1) con respecto a otras colonias del Gran Caribe, incluyendo la colonia de QR/Enc, concluyendo que son valores insuficientes como para mantener las frecuencias genotípicas homogéneas (Slatkin, 1987). En tanto que en el análisis de distintas playas de anidación de tortuga verde en el Atlántico y Mediterráneo (Encalada *et al.*, 1996) los niveles de Nm fueron relativamente bajos (valores entre 0.17-2.5 migrantes por generación). En general, si Nm es mucho menor a 1, es un indicativo de que la deriva génica actúa de manera independiente en cada población; si por el contrario, Nm es mucho mayor a 1, el flujo génico sobrepasa los efectos de la deriva e impide la diferenciación local (Slatkin, 1994).

En las colonias del golfo de México, observamos valores de Nm infinitos entre las colonias de Rancho Nuevo y Farallón, y entre algunas colonias de Campeche (exceptuando Cayo Arcas) con El Cuyo. Pero también entre Isla del Carmen y la colonia de Costa Rica, pero esto es de esperarse porque el haplotipo más abundante en la colonia del Caribe Oriental, el CM-A3, es el haplotipo que se observó en los 9 individuos muestreados de Isla del Carmen. El hecho de que encontremos valores de flujo génico relativamente altos entre la mayoría de las colonias del Gran Caribe, es que evidentemente son poblaciones que han evolucionado juntas.

El método que nos ayudó a definir la estructura poblacional del golfo de México, y en general cómo están estructuradas las poblaciones de *C. mydas* a lo largo del Atlántico y Mediterráneo, y que a su vez nos permitió distinguir sobre el método de diferenciación idóneo para nuestro conjunto de datos y aclarar las incongruencias manifiestas en el análisis de diferenciación interpoblacional, fue el AMOVA, que nos señala cómo se distribuye la varianza de las frecuencias de los haplotipos en niveles jerárquicos (Excoffier *et al.*, 1992).

Los resultados del AMOVA con base tanto en el F_{ST} como en el Φ_{ST} , identificaron una fuerte estructura en las colonias del golfo de México, así como entre ellas y el resto de las poblaciones del Gran Caribe, Atlántico y Mediterráneo, a través del planteamiento de las 11 hipótesis en las que se agruparon en varias maneras el total

de colonias de ambos linajes. Indicativo del sesgo en los valores resultantes en el AMOVA fue que el porcentaje de varianza del índice Φ_{CT} (entre grupos) disminuye con el método de distancias genéticas Tamura conforme se van excluyendo del análisis colonias que pertenecen al linaje del Atlántico Sur. Por el contrario, cuando comparamos grupos compuestos por colonias del mismo linaje, específicamente las del golfo de México según la similitud que se había manifestado en las pruebas de diferenciación, los valores de Φ_{CT} son menores que los correspondientes usando el F_{ST} convencional. Un patrón muy similar fue descrito para comparaciones entre poblaciones de tortuga verde en la región de Australasia. Dethmers *et al.* (2007) encontraron que la proporción de la variación entre las 17 UMs identificadas, fue más alta cuando fueron consideradas las diferencias moleculares que con frecuencias haplotípicas, sugiriendo la existencia de varios linajes evolutivos en la región completa. Sin embargo, dentro de subregiones la porción entre grupos (stocks) de la variación genética fue mayor cuando se realizó el análisis con base en frecuencias haplotípicas.

Para el Gran Caribe, la estructura observada en este trabajo ha sido igualmente dilucidada en estudios realizados anteriormente para *C. mydas* dentro del área, incluyendo el Mediterráneo. Lahanas *et al.* (1994) establece una subdivisión geográfica entre las colonias de Florida y Costa Rica vs Aves y Surinam, agrupándolas en regiones del Oeste y Este, respectivamente, misma estructura que sustenta con los valores muy bajos de flujo génico (0.1-0.2 migrantes/generación). Encalada *et al.* (1996) encuentra este mismo patrón dentro de la extensa área de estudio que incluyó en su investigación. Ellos notan dos linajes evolutivos correspondientes a (A) colonias del oeste del Caribe y Mediterráneo, y (B) colonias del este del Caribe, Atlántico Sur y África.

El empleo de los dos métodos de diferenciación, nos permitió elegir el mejor para las colonias del golfo de México con el subsecuente propósito de definir las UM finales. Formia *et al.* (2006) emplearon este mismo procedimiento para las colonias de tortuga verde en las costas del Océano Atlántico e Índico de África, encontrando que para poblaciones que pertenecen a linajes evolutivos distintos, el mejor método a usar es el que incorpora en su análisis las diferencias moleculares entre los haplotipos. En estudios que se han hecho sobre cuál es el mejor método de diferenciación interpoblacional, se ha sugerido que el estadístico F_{ST} convencional podría ser el más adecuado para estimar niveles de subdivisión poblacional cuando se trata de haplotipos diferenciados por pocas sustituciones (O'Corry Crowe *et al.*, 1997). Si bien es cierto que dos poblaciones del golfo de México presentan en su composición el haplotipo CM-

A5 cuyo origen es del linaje del Atlántico Sur, la frecuencia es tan baja que se observaron resultados más robustos usando el índice F_{ST} convencional para los análisis finales de las colonias.

8.4. Barreras geográficas e identificación de Unidades de Manejo.

La asignación de barreras biogeográficas a través de los programas BARRIER y SAMOVA mostró consistencias entre ellas y la estructura encontrada entre las colonias del Gran Caribe. Sin embargo, notamos que el algoritmo implementado en el programa Barrier da un mayor peso a la separación geográfica, ya que las barreras tuvieron una mayor correspondencia con la estructura final observada que los grupos asignados propiamente en el SAMOVA, como la separación de las colonias de QR/Enc, Costa Rica y Florida, dentro de las barreras principales. Separando también, dentro de barreras secundarias, las colonias de Cayo Arcas y Alacranes, identificadas previamente por su composición haplotípica y diversidad genética, como poblaciones independientes. En cambio, con el SAMOVA se mostraron algunas inconsistencias, principalmente demostradas con la separación individual de las tres colonias de Veracruz, muy probablemente debido a un problema por el tamaño de muestra pequeño de Farallón; mientras que, por otro lado, mantenía en un solo grupo las colonias de Campeche, El Cuyo y Costa Rica, demostrando que le da un mayor peso a las frecuencias haplotípicas más que a la ubicación y separación geográfica, ya que esas colonias presentan en su composición, y en mayor abundancia, el haplotipo CM-A3. Eventos de colonización, flujo génico reciente, fallos a la filopatría, o la exposición de las tortugas marinas en sus primeras etapas de vida a las condiciones oceanográficas, son algunas de las posibles causas que diferentes autores han propuesto para explicar la estructura poblacional de *C. mydas* en su distribución en el ámbito global. Algo similar fue analizado por Bourjea *et al.* (2007) quienes encontraron en hembras que anidan en playas del suroeste del Océano Índico el haplotipo mayormente representado de colonias de tortuga verde en el Atlántico Sur y lo atribuyeron a un reciente flujo génico del Océano Atlántico hacia el Índico a través del Cabo de Buena Esperanza, cuando en estudios anteriores se le había catalogado como la mayor barrera biogeográfica entre ambas cuencas. Con el uso del programa BARRIER, otra barrera fue identificada entre las poblaciones de tortuga verde en la región de Australasia (Dethmers *et al.*, 2007), presentando diferencias entre las colonias más cercanas al Océano Pacífico y aquellas ubicadas al Oeste del área de

estudio; los autores explican esta estructura por una gran barrera geográfica compuesta hoy por un conjunto de islas conocidas como Islas Torres Strait, expresándose en la diversidad a nivel especie existente en los distintos lados de esta barrera, incluyendo algunos invertebrados (Benzie, 1999). En su extenso estudio de las colonias de anidación de tortuga verde, Encalada *et al.* (1996) proponen tres hipótesis de posibles eventos de colonización de la especie a lo largo del Atlántico y Mediterráneo partiendo de una población ancestral ubicada en las latitudes tropicales: (1) de esta población ancestral hacia las colonias de Brasil, de Isla Ascensión, Guinea Bissau, Aves y Surinam; (2) de la población ancestral hacia las colonias del oeste del Caribe (QR/Enc, Florida y Costa Rica); y (3) de las colonias del oeste del Caribe hacia el Mediterráneo (Chipre).

Todos los análisis de diferenciación genética, estructura, y la final identificación de barreras de flujo génico, nos llevó a la definición de las cuatro Unidades de Manejo dentro de la región del golfo de México, y un total de ocho en el Gran Caribe. La primer unidad demográfica identificada fue la formada por las colonias de Rancho Nuevo, Farallón y Lechuguillas, que en todos los análisis exhibieron valores bajos de diferenciación con F_{ST} y Φ_{ST} de Tamura, estadísticamente no mostraron diferencias, y esto se sustentó con los niveles elevados entre estas poblaciones de Nm . El mismo caso se observó para las poblaciones continentales de Campeche y Yucatán. Entre las colonias que conforman cada UM, hay una correspondencia entre los valores de F_{ST} y Φ_{ST} , lo cual sugiere que son poblaciones que manifiestan cierto tipo de aislamiento reproductivo. Las otras dos UM identificadas son las colonias insulares, cayo Arcas y Alacranes, diferenciadas particularmente por tener un haplotipo proveniente del linaje del Atlántico Sur y además otros que no se habían observado nunca antes en colonias mexicanas. Con esto pudiese confirmarse la hipótesis que establece que las poblaciones pequeñas con altos niveles de diversidad nucleotídica podrían ser remanentes de poblaciones ancestrales mayores (Allard *et al.*, 1994; Lahanas *et al.*, 1994), y que esos niveles elevados de π podrían ser el resultado de una combinación de inmigración provocada por fallos filopátricos, y un mayor impacto de introgresión.

A pesar de que la colonia de Florida no demostró diferencias significativas con algunas colonias del golfo de México, se clasificó como unidad independiente considerando, principalmente, su ubicación geográfica, la ausencia de información de intercambio de marcas con México y los resultados de BARRIER. El hecho de que a

Florida se le asocia con otras colonias es que tiene en su composición los dos haplotipos más distribuidos y representados del linaje, además de otro pero en una baja proporción, lo cual provoca un nivel alto de diversidad haplotípica comparado con el bajo valor de diversidad nucleotídica, esto por las pocas diferencias presentes entre sus haplotipos (de 1 a 2 mutaciones). Allard *et al.* (1994) sugieren que la población de Florida fue un producto de mezcla, resultado de una reciente inmigración de diferentes fuentes cercanas.

Encalada *et al.* (1996) no encontraron diferencias significativas entre las poblaciones de Florida y Quintana Roo, sin embargo, en este estudio, esta colonia y con los mismos datos de los autores, se identifica como una población independiente, esto por su alto endemismo haplotípico, niveles elevados de diversidad haplotípica en un tamaño pequeño de muestra, reflejado a su vez en un valor alto de π por el gran número de diferencias entre sus haplotipos ya que contiene uno (CM-A5) proveniente de otro linaje. Los elevados niveles de diversidad nucleotídica de esta colonia han sido comparados con el obtenido con análisis de RFLP en *Caretta caretta* ($\pi=0.732$; Bowen *et al.*, 1993) y con análisis de secuencias de la Región control en *Eretmochelys imbricata* ($\pi=0.849$; Bass *et al.*, 1996).

En el Gran Caribe Oriental, la colonia de Costa Rica se consideró como una UM y Aves y Surinam en otra Unidad independiente. Lahanas *et al.* (1994), con un tamaño de muestra pequeño, no encuentran diferencias significativas entre las colonias de Florida y Costa Rica, y entre Aves y Surinam. Sin embargo, al incrementar considerablemente el tamaño de muestra de la colonia de Costa Rica, se observan haplotipos que no se habían registrado en esa población y cuyo origen está en el linaje del Atlántico Sur, por lo que se concluye que la población de Tortuguero es una unidad independiente (Bjorndal *et al.*, 2005). Entre las colonias de Aves y Surinam se exhibieron valores de F_{ST} y Φ_{ST} bajos y con ningún método se observaron diferencias significativas, reflejado también en los elevados niveles de Nm entre ellas. La relación entre F_{ST} y Φ_{ST} mostró que tanto Aves como Surinam son poblaciones aisladas de las del Caribe Occidental, pero que se ha evidenciado un flujo génico reciente entre las dos regiones, explicado por la presencia del haplotipo CM-A5, representativo de estas dos colonias, en las poblaciones mexicanas.

Otra de las UM identificadas en el resto del Atlántico, es la formada por las colonias de Brasil: Isla Trindade y Atolón Rocas. Los niveles de diferenciación genética

tanto con el F_{ST} como con el Φ_{ST} de Tamura, fueron bajos y sus niveles de significancia fueron mayores a 0.05. Sin embargo, con el primer estadístico no se observaron diferencias significativas entre estas dos colonias y otras de África, ya que, al considerar únicamente las frecuencias haplotípicas, no se detectan diferencias ya que todas las colonias del Atlántico Sur están mayormente representadas en su composición por el haplotipo CM-A8; en cambio, con el modelo de Tamura sí se observaron diferencias significativas entre las colonias de Brasil e Isla Ascensión y las de África, esto porque al incorporar las diferencias moleculares en el análisis, estas colonias se observan como una población independiente ya que presentan haplotipos endémicos y los cambios mutacionales entre ellas y el resto de las colonias del Atlántico Sur, son mayores. Según Luke *et al.* (2004), la filopatría y los patrones de corrientes marinas juegan un papel muy importante en la estructura de las poblaciones de *C. mydas* en el Atlántico. Con base a esto, Naro-Maciel *et al.* (2007) sugieren que crías que nacen en Isla Ascensión, pueden ser acarreadas por la Corriente Ecuatorial hacia las costas del Atlántico Americano, provocando una gran contribución de la colonia del Atlántico medio.

En el primer estudio de estructura poblacional de *C. mydas* entre Isla Ascensión y las colonias de África, Formia *et al.* (2006) encontraron diferencias significativas con los dos estadísticos aplicados (F_{ST} y Φ_{ST} Kimura 2-P) entre Isla Ascensión y todas las colonias africanas, excepto Isla Bioko, pero su estudio incluía un tamaño de muestra pequeño ($n=50$) para ambas colonias, y la misma frecuencia del haplotipo CM-A8. No obstante, en un estudio posterior y aumentando el número de muestra a 245 individuos, Formia *et al.* (2007) encuentran que la colonia de Isla Ascensión es significativamente diferente a las de África reflejo de su alto grado de endemismo haplotípico. En este trabajo, y tomando en cuenta los datos actualizados de composición haplotípica para todas las colonias previamente estudiadas (Formia *et al.*, 2007), únicamente no se observaron diferencias significativas entre las colonias de Isla Ascensión e Isla Bioko, sin embargo, por los altos niveles de flujo génico, composición haplotípica y proximidad geográfica, se decidió unir a Isla Ascensión y las colonias africanas en una sola unidad independiente. Uno de los modelos evolutivos que pudieran explicar la distribución de los linajes de *C. mydas* en el Atlántico y propuesto por Encalada *et al.* (1996) explicaba que la distribución de los organismos pudiese deberse a separación de hábitats provocados por cambios geológicos o climáticos. Pero esta hipótesis sería refutada con el análisis del ADNmit para la colonia de Isla Ascensión, argumentando que la composición de las poblaciones de esta isla es originada por eventos recientes de

colonización (Bowen *et al.*, 1989). Muy probablemente el gran número de haplotipos endémicos que presenta esa colonia pueda ser una combinación de bajos niveles de flujo génico, fallos a la filopatría, o puede ser el resultado de efectos fundador y colonización de nuevas colonias seguidas de un insuficiente tiempo de divergencia (Formia *et al.*, 2007).

Evidentemente, la colonia de *C. mydas* de Chipre, en el Mediterráneo, queda como una unidad independiente, aunque en su composición exhibe haplotipos del linaje del Gran Caribe. En los dos estudios realizados de esta población (Encalada *et al.*, 1996; Kaska *et al.*, 2000) se ha concluido que las poblaciones de tortuga verde del Mediterráneo fueron establecidas recientemente por migración de un pequeño número de hembras provenientes del Atlántico, pudiendo haber ocurrido en el último periodo interglacial. Hace aproximadamente 13,000 años, después de la etapa cálida del Bölling-Allerod, sobrevino un periodo frío, el Younger Dryas, que sucedió hace 10,000-11,000 años (Engstrom *et al.*, 1990; Kudrass *et al.*, 1991; Gates, 1993). Por lo tanto, los eventos de colonización del Noroeste del Caribe hacia el Mediterráneo, pudieron haber ocurrido dentro de los últimos 10,000 años (Encalada *et al.*, 1996).

8.5. Flujo génico a escalas evolutivas e historia demográfica.

A través de la distribución de las diferencias nucleotídicas entre pares de haplotipos para cada población, los parámetros de expansión demográfica, y suponiendo una tasa de mutación confiable, se pudieron hacer inferencias sobre los procesos históricos que posiblemente dieron origen a la estructura de las poblaciones de *C. mydas* en el golfo de México y resto del Caribe Occidental. En conjunto, los resultados de estos análisis, los valores de diversidad genética (h y π) de las UM identificadas, así como los resultados negativos de la prueba de Mantel sugieren que nuestras poblaciones se ajustan a un modelo complejo de aislamiento no necesariamente asociado a una diferenciación generada por distancia lineal, sino más probablemente a una serie de diferentes procesos dando como resultados el patrón en parches que observamos. Por esto, resulta probable que hayan participado varios fenómenos sobrelapados o actuando uno después del otro.

En lo que respecta a los resultados de las distribuciones Mismatch, las únicas colonias cuya distribución fue unimodal son las ubicadas al norte del Caribe Occidental (Florida y RNVer), ajustándose al modelo de Rogers y Harpending (1992), lo que infiere que dichas poblaciones sufrieron una expansión después de pasar por un cuello

de botella o evento fundador. En cambio, la distribución bimodal de las diferencias nucleotídicas del resto de las poblaciones, desde CmCu hasta Costa Rica, son poblaciones en equilibrio o crecimiento constante según el propio modelo. No obstante, entre estas últimas se encuentran las colonias de cayo Arcas y Alacranes que presentaron características particulares como ubicación geográfica, haplotipos provenientes de otro linaje evolutivo y, en el caso de cayo Arcas, un tamaño de muestra quizá insuficiente para inferir de manera robusta aspectos de su historia reciente, y su composición pudiera estar más relacionada a lo explicado anteriormente: eventos de migración o introgresión de genes de otras colonias (fallas en la filopatría) quizá favorecidos por los patrones de corriente en combinación con su ubicación geográfica.

Para propósitos comparativos en esta sección, abordamos el estudio realizado por Formia *et al.* (2006) de las colonias de Isla Ascensión y costas de África, cuando aun no se aumentaba el tamaño de muestra de Isla Ascensión y, por tanto, no se tenía conocimiento de su alto endemismo haplotípico. Los autores encontraron una distribución unimodal para las cuatro colonias analizadas (Isla Ascensión, Isla Bioko, Sao Tome y Comoros), pero en las últimas dos observaron un segundo pico que los propios autores atribuyen a un segundo evento de expansión. Con una tasa de mutación previamente establecida para este marcador molecular por Encalada *et al.* (1996), calcularon el tiempo (t) desde que se dio la expansión en las poblaciones. Sin embargo, en dicha publicación detectamos un error en la fórmula para calcular ese tiempo, ya que tomaron a u , necesaria para la estimación de t (ver fórmulas en sección VII. METODOLOGÍA), como $2\mu k$, operación que se emplea para análisis con RFLPs y no para secuencias (Rogers y Harpending, 1992). Para corregir este error hemos recalculado el tiempo de expansión para cada colonia analizada por ellos, tomando en cuenta la longitud de sus secuencias (483 pb) y la misma tasa de mutación. Con estos nuevos cálculos, se estimó que los tiempos de expansión sucedieron entre ~16,000 años (ocurrido en Isla Bioko) y 360,000 (en Comoros).

Usando la misma tasa de mutación para la especie (Encalada *et al.*, 1996; Formia *et al.*, 2006), dentro del Caribe Occidental obtuvimos que las expansiones se dieron entre los obtenidos en el estudio de Formia *et al.* (2006), ya que fueron desde hace ~37,000 años (en la población de QR/Enc) y 182,000 años (en la población de CmCu), abarcando todo el periodo que duró la glaciación Wisconsin que terminó hace 12,000 años y comenzó hace 100,000 y fue la última gran glaciación del Pleistoceno, y parte de la glaciación anterior a ella, la de Riss que sucedió hace 150,000 años. Se observó que

las poblaciones de CmCu y Costa Rica, que tienen un tamaño de muestra más representativo de la población ($n \gg 50$ individuos) y en cuya composición haplotípica se encuentra en alta frecuencia uno de los dos haplotipos más representativos y distribuidos del linaje, presentaron una expansión hace 181,499 y 177,360 años, respectivamente, mucho mayor a las otras colonias que presentan por lo menos 3 haplotipos en un tamaño de muestra menor. Probablemente el modelo de expansión súbita no se ajuste a todas las poblaciones de *C.mydas* del Caribe Occidental y no se pueda conocer con veracidad la historia demográfica de todas las colonias a través de la distribución de sus diferencias moleculares, contrario a lo que sucede en las colonias del Atlántico Sur (Formia *et al.*, 2006) donde fue más determinante. Sin embargo, las colonias del golfo de México y Caribe Occidental de manera separada y agrupada en UM, exhiben niveles de diversidad haplotípica y nucleotídica similares a los patrones encontrados en el Atlántico Sur (Formia *et al.*, 2006). Hay algunas hipótesis que pudieran explicar este comportamiento (Lahanas *et al.*, 1994). Se ha observado que colonias pequeñas como Sao Tome en África, y cayo Arcas y Alacranes, en el golfo de México o Quintana Roo (Encalada *et al.*, 1996), que arroja el mayor índice de endemismo haplotípico de todas las poblaciones de *C.mydas* en el Gran Caribe, presentan los niveles más altos de ambos índices de diversidad genética (π y h). Esto pudiera estar relacionado a una mayor introgresión por fallos filopátricos. Según el tiempo de expansión de estas poblaciones (entre ~37,000 y 81,000 años), coincide con una estimación global del nivel del mar de 80 m por debajo de su nivel actual (Rohling *et al.*, 1998 en Formia *et al.*, 2006), lo cual pudo haber provocado el aislamiento de hábitats en el golfo de México. Posteriormente, al subir el nivel es que podría haberse incrementado la disponibilidad de playas de anidación nuevamente y propiciar los crecimientos poblacionales. Los errores filopátricos ocurren cuando las hembras eligen playas de anidación distintas al de su origen natal (Carr, 1967). Si hay un fallo en la navegación de las tortugas hacia su playa de anidación (poco común, pero en términos evolutivos evidentemente ocurre), éstas pueden llegar a otros lugares dando lugar a una contribución genética, y estos eventos pudieran explicar la composición haplotípica de cayo Arcas y Alacranes. Por el contrario, colonias como Isla Ascensión en el Atlántico Sur (Formia *et al.*, 2006), y en el Caribe Occidental Costa Rica (Bjorndal *et al.*, 2005), Veracruz o El Cuyo (este estudio), de las que se obtuvo un tamaño de muestra grande, presentan bajos niveles de diversidad genética. Estudios sobre variación genética de poblaciones naturales, han sugerido que las poblaciones con bajos niveles de diversidad

genética pueden estar asociadas a recientes e históricos cuellos de botella (Nei y Graur, 1984; Avise, Ball y Arnold, 1988), o bien, la causa puede ser un efecto fundador seguido de un rápido incremento poblacional (Lahanas *et al.*, 1994).

Encalada *et al.* (1996) plantean algunas hipótesis sobre el origen de la tortuga verde en la región del Caribe Occidental, igualmente basadas en eventos climáticos y geológicos sucedidos durante el Pleistoceno. Durante la glaciación Wisconsin (que alcanzó su máximo hace 18,000 años), los registros climáticos han indicado que las masas de hielo se extendieron ~10 grados de latitud más cerca del ecuador (Gates, 1993). Las bajas temperaturas originadas en esta zona, provocaron que las tortugas eligieran playas de anidación ubicadas en latitudes más altas (p. ej. Florida, Yucatán, o Chipre). De esta forma, el flujo génico provocado por dichos eventos podría también haber influido en la presencia de haplotipos externos en colonias del golfo de México.

8.6. Modelos para los patrones filogeográficos de la variación genética.

La estructura del árbol genealógico recupera consistentemente los dos linajes evolutivos ya descritos para *C. mydas* en el Atlántico y Mediterráneo (Encalada *et al.*, 1996; Bjorndal *et al.*, 2005; Formia *et al.*, 2006) a los que ahora se les agrega la información sobre orígenes a los haplotipos anteriormente conocidos solamente de sitios de alimentación regional. Uno de los linajes está compuesto por los haplotipos del este del Gran Caribe, Atlántico Sur y costas del oeste de África (clado B); y en el otro se incluyen los haplotipos presentes en la región oeste del Gran Caribe y del Mediterráneo (clado A). De acuerdo a Encalada *et al.* (1996), la segregación geográfica de los haplotipos en los dos linajes puede ser explicado bajo dos posibles modelos: (1) que la distribución diferencial de los linajes se deba a alteraciones de hábitat ocasionados por cambios geológicos o climáticos causando aislamiento entre poblaciones que posteriormente generan composiciones genéticas distintas (escenarios de vicarianza); y (2) la habilidad de los organismos ya diferenciados genéticamente para trasladarse y establecerse más allá de los límites de su distribución histórica (escenarios de dispersión).

El haplotipo CM-A5 ubicado en el linaje B, es separado por una sustitución de los haplotipos CM-A6, A7, A20 y A21, encontrados en las colonias de Aves, Surinam y Costa Rica y reportado en estas colonias del sur del Gran Caribe en altas frecuencias, disminuyendo su proporción más hacia el occidente, ya que ha sido reportado en

Quintana Roo (Encalada *et al.*, 1996) y ahora en dos colonias del golfo de México (cayo Arcas y Alacranes, en 1 y 3 individuos, respectivamente). De acuerdo a Encalada *et al.* (1996), precursores de los haplotipos CM-A5, A6 y A7 de un stock ancestral de Atlántico central pudieron haber colonizado costas del noreste de Sudamérica (lo que hoy sería Surinam y las Guayanas), cuya ubicación geográfica está donde coinciden ambos linajes, la colonia fuente de ese haplotipo. Por lo tanto, las colonias de Costa Rica, Aves y Surinam, al contar las tres con una elevada frecuencia del haplotipo CM-A5, se pueden considerar como puente y representativas de ambos linajes, permitiendo el flujo de este haplotipo hacia la parte norte del linaje del Gran Caribe. Los niveles de diversidad nucleotídica elevados reflejan la introgresión de haplotipos de un linaje a otro.

Según Templeton (2001), el haplotipo ancestral se caracteriza por ser el mejor representado y central dentro de la red de haplotipos. En el caso de los dos linajes encontrados, estamos hablando de los haplotipos CM-A8 y CM-A3, el primero considerado el ancestro en la región del Atlántico Sur, y el segundo para el Gran Caribe. Ambos haplotipos son mayormente diferenciados por sólo una sustitución de aquellos que los rodean. El haplotipo CM-A8 es el más representativo de las colonias del Atlántico Sur (Formia *et al.*, 2006; Formia *et al.*, 2007) y por su posición central de la red completa así como por el número de uniones con haplotipos aparentemente derivados de él, puede considerarse como el haplotipo más ancestral.

En cambio, el haplotipo ancestral del Gran Caribe el CM-A3 se encuentra rodeado de un total de 11 haplotipos distinguido de cada uno de ellos por una transición, incluyendo el haplotipo CM-A47 que fue encontrado en la colonia de cayo Arcas, en Campeche donde el haplotipo más abundante fue el CM-A3. Otro de los haplotipos más representativos de las colonias del Caribe Occidental es el CM-A1, que aparece como otro centro de diferenciación y separado del CM-A3 por una sustitución. Este haplotipo tiene una distribución geográfica inversa al CM-A3, ya que su representatividad disminuye hacia el sur del Gran Caribe, siendo más abundante en las colonias del norte del golfo de México, incluyendo Rancho Nuevo.

En el mismo linaje del Gran Caribe se encontraron los haplotipos CM-A13 y CM-A14 que caracterizan la población de tortuga verde en Chipre, separados por 1 ó 2 cambios mutacionales de los haplotipos CM-A16 y CM-A17 endémicos de las colonias de Quintana Roo (Encalada *et al.*, 1996). Según estos mismos autores, probablemente los haplotipos precursores del CM-A13 y CM-A14 tuvieron su origen en la región del

Caribe, colonizando y fijándose en el mar Mediterráneo durante el periodo interglacial, eso pudiera explicar su presencia en el linaje del Atlántico americano.

Los dos haplotipos encontrados en las dos colonias insulares del golfo de México (CM-A47 y CM-A27) nos brindan una visión de los procesos evolutivos que pudieron ocasionar su presencia en las poblaciones de México. El haplotipo CM-A47 había sido reportado en individuos en un sitio de alimentación (Bjorndal *et al.*, sin publicar), sin embargo, al no conocerse de cualquier otra colonia de anidación puede ser considerado como endémico de nuestro país. En tanto que el CM-A27 se encuentra relacionado con los haplotipos CM-A22 y CM-A28, que también fueron observados en organismos que van a alimentarse a aguas de Carolina del Norte, y en conjunto, forman el grupo de haplotipos cuyo origen natal no pudo identificarse en esa investigación (Bass *et al.*, 2006). Atención particular el hecho de que este haplotipo (CM-A27) aparezca (en una frecuencia del 22%) en la colonia de Alacranes, isla situada en la frontera entre el mar Caribe y el golfo de México, por lo que se puede inferir que la composición haplotípica de esta colonia podría depender de su situación geográfica en conjunto con el patrón de corrientes oceanográficas que confluyen en la región y que podrían amplificar la posibilidad de recibir migrantes de orígenes diversos fuera del área inmediata de México. Además, ha sido reportado en colonias que anidan en una playa ubicada al sureste de las costas de Cuba (Espinosa *et al.*, 2000).

El panorama expuesto en el presente trabajo coincide con las expectativas para poblaciones de tortuga verde en el Gran Caribe sobre la base de los estudios realizados por Lahanas *et al.* (1994): poblaciones con mayor número de hembras reproductoras se caracterizan por niveles bajos de diversidad haplotípica, como las poblaciones de Surinam y Costa Rica que tienen una mayor abundancia de hembras anidadoras por año (entre 5,000 y 23,000, resp.; Encalada *et al.*, 1996; Bjorndal *et al.*, 2005), en tanto que las colonias de Isla Aves y Florida con ~300-500 hembras/año, exhibieron valores más altos de h en el estudio realizado por Encalada *et al.* (1996). Estos valores altos de diversidad genética en poblaciones pequeñas, pueden ser explicados por fallas a la filopatría, cuando las hembras eligen otro sitio para anidar distinto al de origen, debido generalmente a cambios ambientales drásticos (Carr, 1967), aunque es lógico pensar que ocasionalmente ocurren sin ninguna asociación a modificaciones ambientales. Sin embargo, se esperaría que el impacto sobre la composición genética sea mucho mayor entre más pequeña sea la población receptora. Además, se provocaría la frecuencia de haplotipos extraños si las fallas filopátricas provienen de colonias distantes (Lahanas *et*

al., 1994). Estas mismas colonias pequeñas al exhibir niveles altos de diversidad genética, podrían ser (a) remanentes de poblaciones mayores ancestrales en la región o ser el resultado de varios eventos fundadores afectados inclusive por fuerte deriva génica (Allard *et al.*, 1994; Lahanas *et al.*, 1994; Clegg *et al.*, 2002).

Buscando una explicación más clara de la composición genética y comportamiento de estas dos colonias en particular, cayo Arcas y Alacranes, se recurrió a la Teoría de Biogeografía de Islas añadiendo el modelo genético a su contexto ecológico. Según MacArthur y Wilson's (1963, 1967), las relaciones entre la teoría de biogeografía de islas y el tamaño de las mismas, juegan un papel central en el desarrollo de la ecología de las poblaciones. Esta teoría asume como los dos factores fundamentales que pueden suceder en las islas a la colonización, que está más relacionada con la distancia entre la isla y el continente (entre más distante esté la isla, menor será la colonización), y la extinción, que depende más del tamaño (entre más pequeña sea la isla, más pequeña la población y por tanto mayor riesgo de extinción) (MacArthur y Wilson 1963, 1967). Sin embargo, Johnson *et al.* (2000) considerando el modelo genético de biogeografía de islas, añaden a estos dos procesos la inmigración (nuevos alelos pueden ser sumados al pool genético de la población isleña) y la mutación (porque las poblaciones en la isla pueden divergir a lo largo del tiempo). De acuerdo a la teoría, se esperaría encontrar una menor diferenciación genética entre las poblaciones de islas pequeñas y cercanas al continente, ya que hay un mayor flujo génico (Johnson, 2003) que inclusive obstaculizaría la especiación. Por otro lado, se esperaría que la diversidad genética en las islas sería menor que en las colonias continentales por varios factores como eventos de fundador y deriva génica (Holgate, 1966; Chakraborty y Nei, 1977; Grant *et al.*, 2001). No obstante, en las islas de cayo Arcas y Alacranes se encontró lo contrario. Estas colonias presentan tanto una alta diferenciación genética con respecto de las colonias continentales de la región, y simultáneamente elevados niveles en ambos parámetros de diversidad genética medidos (haplotípica y nucleotídica) comparados con el resto de las poblaciones de la especie dentro del Atlántico. El promedio de la distancia que separa a cayo Arcas y Alacranes del continente es de 143 km; ambas tienen una longitud de 2.4 y 2.8 km, respectivamente. En cayo Arcas se reportan 100 nidos/año comparados con los 910 reportados en las colonias continentales de Campeche; en tanto que Alacranes presenta 333 nidos/año en comparación a los 500 de El Cuyo. Por lo tanto, comparativamente son poblaciones pequeñas. De acuerdo a la teoría de biogeografía de islas, se esperaría

que, en el caso de cayo Arcas, este manifestara una homogeneidad en su composición genética a las colonias más cercanas como son las que se ubican a lo largo de Campeche, y que a su vez la población de Alacranes demuestre una semejanza a la de El Cuyo. Pero la presencia de haplotipos relativamente diferenciados del resto del conjunto observado en el golfo de México (como el CM-A5 y el -A27) o del haplotipo CM-A47 que sólo ha sido reportado en un sitio de alimentación (Bjorndal *et al.*, sin publicar) nos hace pensar que efectivamente estas colonias funcionan como sumideros, recibiendo en algún momento en el pasado inmigrantes que contienen haplotipos distintos a los encontrados en cualquier colonia mexicana. En el ciclo de vida de las tortugas marinas, las corrientes oceanográficas juegan un papel muy importante, así como en su distribución durante sus primeras etapas de vida (Hughes 1974; Carr y Meylan, 1980; Witham, 1980). Por la posición geográfica en que se encuentran las colonias de cayo Arcas y Alacranes, sugiere que organismos (como crías o como juveniles previo a su reclutamiento al ambiente béntico) provenientes de las colonias del Gran Caribe Oriental, fueran acarreadas por la Corriente del Caribe (Figura 16), adentrándose en las costas del golfo de México. Normalmente, los organismos conforme adquieren su madurez sexual e inician su migración reproductiva la enfocan a su sitio de natalidad (filopatría). Sin embargo, ocasionalmente hay fallas en esta fidelidad y al dirigirse a hábitats nuevos o aquellos establecidos por otra colonia propicia la introgresión de haplotipos foráneos, originando un acercamiento con colonias geográficamente distantes. Su incorporación al perfil haplotípico sería más probable al ser colonias pequeñas, como ya se mencionó. El efecto de las corrientes marinas no sólo puede ser visible para estas dos colonias insulares, sino en general para toda la región del golfo de México. La corriente del Gran Caribe sube desde Costa Rica a la Península de Yucatán entrando una parte, ya como Corriente de Yucatán, al golfo de México en tanto que otra gran masa de agua –la Corriente de Lazo– se desplaza hacia Florida, permitiendo el flujo de migrantes entre estas dos zonas y por ello se entiende que en la región de Campeche predomine el haplotipo CM-A3 mayoritario de la población de Costa Rica y que Florida presente en su composición los haplotipos mayormente distribuidos y representativos del linaje del Gran Caribe.

Es posible que existan procesos de introgresión en diferentes escalas de tiempo e intensidad. Las altas frecuencias del haplotipo CM-A1 en Tamaulipas y Veracruz puede ser el resultado de algún evento antiguo de introgresión que posteriormente se extendió. Pero también pudiera ser reflejo de un proceso dinámico más amplio geográficamente

de una expansión del CM-A5 hacia el Norte y Occidente del Gran Caribe pero que aun no afecta más al oeste de Campeche.

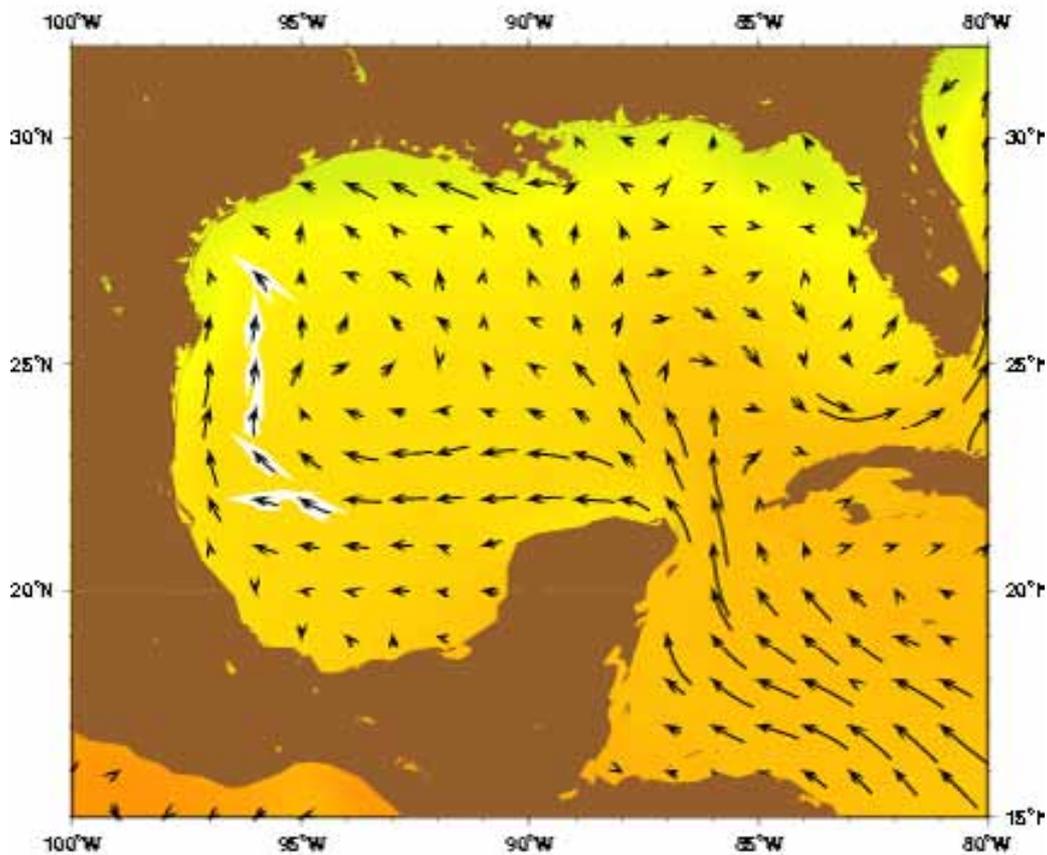


Figura 14. Patrón de corrientes oceanográficas que confluyen en la región del golfo de México, indicando su dirección. Tomada de la página <http://oceancurrents.rsmas.miami.edu/caribbean/mexican.html>. Las flechas indican los vectores de dirección de las corrientes, y su longitud es proporcional a las velocidades.

8.7. Contribución de las UM a los sitios de agregación marina regionales.

El conocimiento de las rutas migratorias y la ubicación de sus sitios de desarrollo y alimentación para *Chelonia mydas*, especie considerada en peligro de extinción (Seminoff, 2004; IUCN, 2006), se ha convertido en una prioridad para implementar estrategias efectivas de manejo y conservación con base científica. Hasta hace poco tiempo, poco se sabía acerca de las primeras etapas de vida de las tortugas marinas: desde que son crías y se alejan de la playa donde nacieron, hasta que son juveniles y se encuentran alimentándose en sitios de agregación. Con el uso de marcas físicas, se sabe que las hembras de tortuga verde migran miles de kilómetros entre las playas de

anidación y los sitios de alimentación, demostrando inclusive que no sólo muestran fidelidad a sus playas de anidación, sino también al sitio que eligen para alimentarse, por lo menos el que utilizan al alcanzar la madurez sexual (Carr *et al.*, 1978; Limpus *et al.*, 1992).

El contar con diferencias genéticas entre las poblaciones de anidación ha hecho posible usarlas como marcas moleculares con las cuales determinar qué colonias reproductoras contribuyen a un área particular de alimentación o captura (Eckert *et al.*, 2000). Este análisis conocido como de Stocks Mezclados (MSA, por sus siglas en inglés), en conjunto con el uso de marcadores del ADNmit, ha sido de gran utilidad para conocer la composición de las poblaciones de tortugas marinas en sitios de alimentación (Broderick *et al.*, 1994). En un principio, para conocer la contribución de las colonias o stocks a los distintos sitios de mezcla, era utilizado el algoritmo de Máxima verosimilitud (ML; Pella y Milner, 1987); después, se incorporaron los análisis Bayesianos (Pella y Masuda, 2001), siendo los últimos los más recomendados para estos trabajos. De manera general, arrojan resultados con menores intervalos de confianza, son capaces de controlar errores de muestreo y ofrecen un mejor seguimiento de los marcadores menos frecuentes (Pella y Milner, 1987; Smouse *et al.*, 1990; Bolker *et al.*, 2003).

En los MSA realizados para *C. mydas*, se han manejado diversas hipótesis sobre los factores y procesos que definen la composición de los sitios de alimentación, infiriendo que puede estar relacionada con: (1) el tamaño de la colonia (Bass *et al.*, 1998; Lahanas *et al.*, 1998); (2) la distancia geográfica entre la colonia y el sitio de mezcla (Bass y Witzell, 2000); y (3) la influencia de las corrientes oceanográficas (Luke *et al.*, 2004).

El empleo del algoritmo UML (Unconditional Maximum Likelihood) y del Bayesiano a través del método recientemente desarrollado “Many-to-many” (Bolker *et al.*, 2007), proporciona una mayor perspectiva de la contribución de las UM identificadas dentro del golfo de México hacia los sitios de alimentación de la región, y abordar de manera más precisa las hipótesis planteadas por los otros autores.

A través de la identificación de nuevas unidades de manejo entre las colonias de tortuga verde que anidan en el golfo de México, independientes de las que anteriormente se conocían, se logra mayor resolución en los análisis de mezcla de stocks a nivel regional y, por ende, mayor veracidad que en los trabajos anteriores. En el pasado, se cuantificaba la aportación de México considerando sólo los datos derivados

de las dos colonias de Quintana Roo con un tamaño de muestra pequeño ($n=20$) del trabajo de Encalada *et al.* (1996). Incluso, para los análisis de los sitios de Bahamas y Florida, se consideró a las colonias de Florida y México como una sola UM al no encontrar, según las pruebas implementadas, diferencias significativas entre ellas, por lo tanto, ahora se puede verificar, no se sabía con precisión la contribución de las colonias mexicanas (Lahanas *et al.*, 1998; Bass y Witzell, 2000). En ambos casos sólo se utilizó el método de Máxima verosimilitud (ML). En el caso de Barbados (Luke *et al.*, 2004), se empleó un análisis Bayesiano para obtener la contribución de las colonias del Atlántico a dicho sitio. Sin embargo, en dos trabajos posteriores, para los sitios de Carolina del Norte (Bass *et al.*, 2006) y Almofala y Ubatuba en Brasil (Naro-Maciel *et al.*, 2007), dentro del mismo análisis Bayesiano, se incorporó la variante del tamaño poblacional para cada colonia anidadora a los priors del análisis, para comparar con el resultado sin considerar esta variable.

En el presente estudio, los resultados del MSA bajo el algoritmo de Máxima verosimilitud y el Bayesiano sin considerar el tamaño de las colonias y considerándolo, varían considerablemente. En las contribuciones estimadas con el método UML, las UM del golfo de México son escasas y recargadas principalmente hacia Florida por parte de CmCu; a través del método Many-to-many aparecen contribuciones en todos los sitios del Atlántico, incluyendo a los tres de Brasil, pero bajo este mismo método incorporando el tamaño de las colonias, disminuye el aporte por parte del golfo de México y las mayores contribuciones se dan por parte de la colonia de Costa Rica para los sitios ubicados dentro del Gran Caribe, y de las colonias del Atlántico Sur a los sitios de Brasil. Un comportamiento similar se observó en el estudio del sitio en Carolina del Norte (Bass *et al.*, 2006). Los autores encontraron una mayor correspondencia entre el método ML y el análisis Bayesiano valorando los tamaños poblacionales y concluyen que biológicamente debe ser más correcto el resultado cuando se incluye información sobre abundancias. Aun así, atribuyen las composiciones resultantes principalmente al sistema de corrientes marinas y giros oceanográficos que tienen lugar en el Gran Caribe. Por el contrario, en el trabajo de Naro-Maciel *et al.* (2007), se observan resultados similares usando el método Bayesiano sin considerar los tamaños de las poblaciones, y considerándolos. No obstante, la metodología empleada en dichas investigaciones (Bass *et al.*, 2006; Naro-Maciel *et al.*, 2007) es el tradicional análisis bayesiano (Pella y Masuda, 2005) que, a pesar de haber incorporado los efectos de un error de muestreo (Pella y Milner, 1987; Smouse *et al.*, 1990; Bolker *et al.*, 2003)

y los efectos de los tamaños poblacionales (Okuyama y Bolker, 2005), el análisis se enfoca a determinar cómo contribuyen las colonias a un solo sitio de mezcla, nombrado como “Many-to-one” por Bolker *et al.* (2007). La diferencia con el método “Many-to-many” desarrollado por Bolker *et al.* (2007) y empleado en el presente trabajo, es que este último considera simultáneamente una meta-población en donde se evalúa movimiento entre todas las fuentes y todas las agregaciones. Por tanto, es un procedimiento más acorde con la realidad biológica y mejora la precisión de las estimaciones (Bolker *op. cit.*)

En su análisis de todas las colonias de tortuga verde del Atlántico y cómo éstas contribuyen a los sitios de agregación de la región, Bolker *et al.* (2007) encuentran resultados cualitativamente similares entre los resultados con los enfoques de Many-to-many y el Many-to-one, ambos considerando los tamaños de las colonias. Lo más importante es que se logra un incremento en la precisión de las estimaciones. También se demuestra que mejorías en las estimaciones de composición de mezclas se logra incorporando covariables ecológicas o el contexto metapoblacional para introducir la mayor cantidad de datos informativos posibles.

En este trabajo, se encontró una mayor robustez en los resultados bajo el método Many-to-many incorporando en el análisis los tamaños de las colonias, medido por disminuciones en el intervalo de confianza al comparar con métodos de máxima verosimilitud. Evidentemente hay una relación entre las distancias de las colonias y los sitios de agregación, observándose una mayor contribución de las poblaciones del Gran Caribe a los sitios dentro de la misma región, lo mismo para las colonias del Atlántico Sur con respecto a los sitios de Brasil. Pero también hay un correspondencia entre el porcentaje de aportación respecto al tamaño de la colonia, observándose, por ejemplo, cómo la colonia más grande del Gran Caribe, Costa Rica, contribuye en una mayor proporción a todos los sitios dentro de esta misma área. La conducta de las tortugas marinas durante sus primeras etapas de vida en conjunto con el sistema de corrientes que confluyen en la región, pudieran explicar este comportamiento.

Al alejarse las crías de la playa donde nacieron, están expuestas a la velocidad y dirección de las corrientes marinas que se centran en el Atlántico, iniciando así una etapa pelágica (Wyneken y Salmon, 1992). Durante este tiempo, las crías pueden ser acarreadas miles de kilómetros de distancia desde sus playas de origen. Se tiene poco conocimiento de la fase pelágica de los juveniles de tortugas marinas, pero se sabe que, en algunos casos, estos animales se dispersan a través de las cuencas oceánicas durante

el curso normal de su ciclo de vida (Frazier, 1999). El hecho de que se haya encontrado una mayor contribución de las UM de RNVer y CmCu (ambas con tamaños poblacionales grandes) del golfo de México a los sitios de agregación cercanos de Florida y Carolina del Norte, pudiese deberse a la combinación de los patrones de corrientes, junto con una tendencia de las tortugas marinas por moverse hacia sitios de desarrollo cercanos a las playas de origen una vez que alcanzan la madurez (Bass y Witzell, 2000), ya que el comportamiento filopátrico en su etapa juvenil las estará acercando a su sitio natal permitiendo que se alimenten en lugares cada vez más próximos. Sin embargo, otra explicación pudiera estar relacionada al papel de las corrientes marinas en la dispersión de las tortugas marinas antes de establecerse en un sitio de alimentación. Luke *et al.* (2004) concluyeron que las grandes contribuciones de las poblaciones de Florida, Aves/Surinam e Isla Ascensión al sitio de alimentación en Barbados, obedece a que este sitio se encuentra en el punto donde las corrientes Nor y Sur-ecuatorial convergen, provocando grandes giros en el Atlántico norte que desembocan en Barbados. Usando el método Many-to-many, tanto los resultados de este trabajo como los de Bolker *et al.* (2007) demuestran una disminución por parte de la colonia de Florida, compensada con un aumento por parte de Costa Rica y algunas colonias del Atlántico Sur, cuyo número de hembras/año es mayor. En el golfo de México, la Corriente del golfo se desplaza con gran velocidad hacia el Atlántico norte, lo que pudiese provocar que en los sitios de agregación de Florida y Carolina del Norte, haya un mayor aporte de colonias mexicanas incluyendo QR/Enc y menos hacia sitios que, aun estando dentro del Gran Caribe, no reciben influencia de esta corriente.

En lo que respecta al Atlántico Sur, la corriente Sur-ecuatorial llega con fuerza alimentando a la corriente de Brasil, lo cual pudiera explicar que los sitios de alimentación de Brasil tengan un gran aporte por parte de la colonia de Isla Ascensión. Este flujo proveniente del hemisferio sur converge con el flujo tropical que llega del este hacia el Caribe en forma de la Corriente de Canarias, por lo que la Corriente del golfo inicia su recorrido desde el norte de Cuba. Esto pudiera explicar la presencia de haplotipos del linaje del Atlántico sur en colonias insulares del golfo de México, así como el haplotipo CM-A27 en Alacranes y que había sido visto en colonias cubanas.

Los resultados bajo la segunda modalidad (“rookery-centric”) han demostrado, al igual que Bolker *et al.* (2007), que los individuos de *C. mydas* de las colonias analizadas, preferencialmente se congregan en sitios de alimentación dentro de la región donde ocurren sus playas de origen, coincidiendo nuevamente con el patrón de

corrientes marinas. El programa además estima una porción que debe distribuirse en sitios de alimentación desconocidos (fuera del conjunto de sitios evaluados), notándose un mayor aporte de aquellas colonias con haplotipos no presentes en ningún sitio de alimentación, como Chipre. Evidentemente, hace falta realizar estudios de más sitios de alimentación.

En general, con el actual conocimiento de la composición haplotípica de las colonias de *C. mydas* del golfo de México y tomando en consideración el tamaño poblacional, se ha observado una considerable contribución por parte de las UM identificadas en este estudio, información que anteriormente no estaba disponible.

El tener conocimiento de las rutas migratorias de las poblaciones de tortuga verde del golfo de México, aporta fundamentos científicos no sólo para la toma de decisiones sobre manejo y conservación de las poblaciones de la especie en el país, sino también demandan una responsabilidad compartida en la conservación de *Chelonia mydas* en hábitats en aguas internacionales y con los otros países. De acuerdo a Moritz (1994), el reconocer las unidades genéticas discretas es de gran relevancia para implementar estrategias de manejo de acuerdo a las necesidades que cada una de ellas demande.

9. CONCLUSIONES.

1. Se observó una marcada estructuración genética entre las poblaciones de *C. mydas* en el golfo de México, identificando por primera vez un total de 4 unidades de manejo en la región caracterizadas a través de diferentes métodos de diferenciación genética y modelos evolutivos.

2. Las colonias de tortuga verde del golfo de México mostraron valores de diversidad genética dentro del ámbito observado para la especie, a excepción de las dos colonias insulares del área (CA y Alacranes) las cuales presentaron valores altos tanto de diversidad haplotípica como nucleotídica. Esto se explica por la presencia de diversidad de linajes evolutivos a través de haplotipos singulares que podrían ser resultado de inmigraciones de individuos pertenecientes a colonias distantes, fallando a su filopatría, y que han desaparecido o de las que no se reportes analizado. Estos resultados favorecen la hipótesis que colonias ubicadas en islas son más susceptibles a la introgresión porque típicamente presentan pequeños tamaños poblacionales, además de situarse dentro de regimenes oceanográficos que propician el acarreo de colonizadores potenciales. No obstante, por la composición genética de dichas colonias se estableció que son genéticamente aisladas del conjunto actual de poblaciones.

3. La identificación de la ubicación de barreras geográficas al flujo génico a partir de las diferencias genéticas entre poblaciones (por los programas BARRIER y SAMOVA), corroboran la estructura encontrada en el golfo de México, observando barreras que separan a las colonias de Veracruz y Tamaulipas en un solo grupo, así como a Costa Rica, Quintana Roo y Florida, cada una como una población independiente respecto del resto de las colonias de la región.

4. El flujo génico entre las colonias de tortuga verde del golfo de México fue alto entre las ubicadas en el norte de la región y entre las del sur, notándose un patrón generalizado de interrupción reciente de flujo génico partiendo de un modelo metapoblacional en donde la diferenciación entre las colonias se debe a factores como colonizaciones o su exposición al sistema de corrientes oceanográficas, como fue el caso de las colonias de cayo Arcas y Alacranes. Los valores de Nm relativamente altos entre colonias de la zona oriental del golfo de México y la unidad de manejo de Costa Rica reflejan una ancestría común, relativamente reciente.

5. Las pruebas mismatch indicaron que las distribuciones son unimodales para las colonias del norte del Caribe Occidental (Florida y RNVer), sugierendo

poblaciones que pasaron por un cuello de botella o evento fundador seguidos de una expansión reciente; y bimodales para las del sur de la región (desde CmCu hasta Costa Rica) sugiriendo que se trata de colonias en equilibrio demográfico o sin crecimiento. La estimación del tiempo en el cual pudo ocurrir la contracción de todas las poblaciones del golfo de México en conjunto se estimó en 49,600 años.

6. Un caso particular fueron los resultados para las colonias insulares (cayo Arcas y Alacranes) cuyos resultados de mismatch fueron extremos. A pesar de que los resultados de este análisis también indican que se apegan al modelo de expansión súbita, se considera que la mejor explicación para su composición genética incluyente de haplotipos relativamente diferenciados (los valores más altos de π) sería más bien una introgresión histórica de genes de otras colonias, en lugar de la inferencia de evolución local por estos modelos.

7. En la búsqueda del modelo evolutivo que pudiera explicar la estructura encontrada en las poblaciones de tortuga verde del golfo de México, se concluyó que ésta no obedece a un modelo simple de aislamiento por distancia a través de la prueba de Mantel, al observar principalmente algunos casos de colonias cercanas que manifestaron diferencias genéticas significativas y, por el contrario, colonias distantes geográficamente que arrojaron valores de distancias genéticas bajos. Para el caso particular de las dos colonias insulares, se concluyó que los postulados de la teoría de biogeografía de islas no explican la composición genética encontrada en las mismas. Con base en lo encontrado, el modelo que mejor aplicaría para las poblaciones de tortuga verde de las colonias estudiadas, es el de una inmigración histórica y no precisamente un modelo evolutivo local.

8. El esclarecimiento de las unidades de manejo para la especie en el golfo de México obtenida por el presente estudio ofrece una mayor veracidad en la estimación de la contribución de los stocks mexicanos a los sitios de alimentación reportados para la especie a lo largo del Atlántico.

9. Los análisis de mezclas de stocks para sitios de alimentación en la región indican que las poblaciones del golfo de México se alimentan en sitios principalmente ubicados dentro del Gran Caribe, particularmente en aguas de las costas del SE de los Estados Unidos.

10. RECOMENDACIONES.

1. Considerando que antes del presente estudio se pensaba que todas las colonias de tortuga verde dentro del país pertenecían a una sola población, y los planes de manejo y conservación eran principalmente enfocados a las colonias más grandes, con base en los resultados de este estudio resulta indispensable enfocar estrategias específicas para cada una de las cuatro UM identificadas. Esto es particularmente importante para las poblaciones de cayo Arcas y Alacranes que han manifestado características especiales en su composición haplotípica, están más aisladas y posiblemente requiera un esfuerzo logístico especial.

2. Aumentar el número de muestra de aquellas colonias con un tamaño muestral pequeño o de las que se obtuvo de una sola temporada, lo cual impidió el análisis comparativo entre los dos años que abarcó este estudio para facilitar el esclarecimiento de algunas ambigüedades presentes en los análisis de diferenciación genética interpoblacional.

3. Que en los estudios subsecuentes que se realicen con *Chelonia mydas* empleando la misma herramienta molecular, sea utilizado el fragmento de 800 pb analizado en este trabajo para hacer comparables los resultados a un mismo nivel de resolución y garantizar el análisis abarcando los polimorfismos en toda la extensión de la región control.

4. Debido a las extensas migraciones que se sabe realiza la especie, abarcando incluso aguas territoriales de varios países, se recomienda el empleo de marcadores moleculares nucleares, como los microsatélites que, por su alta tasa de mutación, se supone permite registrar conectividad entre poblaciones con una mayor resolución. Además, por ser biparentales, podría adicionar el conocimiento del comportamiento y ámbito geográfico de las migraciones de los machos a la nueva evidencia derivada del presente estudio.

11. GLOSARIO.

Alelo - Cada una de las versiones alternativas de un gen en un locus determinado. Los diferentes alelos producen variaciones en los rasgos heredados, por ejemplo el color de los ojos o los grupos sanguíneos. Cada individuo tiene dos alelos de cada gen, un alelo heredado del padre y el otro de la madre.

Adenina – Una de las cuatro bases nitrogenadas que componen el ADN. La adenina siempre se une con la Timina en la doble hélice.

ADN (Ácido Desoxirribonucleico) - Polímero de desoxirribonucleótidos unidos por enlaces 5'-3' fosfodiéster. Es uno de los dos ácidos nucleicos naturales conocidos y la molécula que almacena la información genética por excelencia en los seres vivos.

ADN mitocondrial (ADNmit) – Material genético circular cerrado de doble cadena que se localiza en el interior de las mitocondrias celulares, y consta de aproximadamente 16500 pb. Se hereda vía materna, es decir, que tanto hembras como machos lo presentan, pero únicamente las hembras pueden heredarlo a generaciones subsecuentes. Esto se debe a que durante la fecundación, es el óvulo el que aporta el citoplasma al cigoto, y es en el citoplasma donde se localizan las mitocondrias.

ADN polimerasa - Enzima que cataliza la extensión del extremo 3' de una hebra de ADN sobre una plantilla de ADN complementario, con liberación de un pirofosfato (o difosfato, formado por los fosfatos β y γ del dNTP recién añadido al extremo 3'-OH de la hebra creciente.

Aminoácido - Unidad estructural de una proteína. Es un ácido orgánico compuesto de un grupo amino (-NH₂), un grupo carboxilo (-COOH), un átomo de hidrógeno (-H) y un grupo distintivo o radical (-R) unidos a un átomo de carbono central (denominado 'carbono alfa' por ser adyacente al grupo carboxilo; no marcado en la figura). En un medio acuoso de pH neutro, los aminoácidos individuales existen predominantemente como iones bipolares o dipolos (zwitteriones).

Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) – Diferentes análisis jerárquicos de la varianza molecular para evaluar el grado de estructura genética de una población.

Árbol genealógico – Esquema que muestra las relaciones ancestrales y la transmisión de caracteres genéticos en una familia a lo largo de varias generaciones.

ARN (Ácido Ribonucleico) - Molécula sintetizada a partir del molde de ADN; contiene el azúcar ribosa en lugar de la desoxirribosa presente en el ADN. Hay tres tipos fundamentales de ARN: mensajero (ARNm), transferente (ARNt) y ribosómico (ARNr).

Base nitrogenada - Cualquiera de los compuestos químicos nitrogenados que constituyen los ácidos nucleicos. Existen dos tipos de bases nitrogenadas: purinas, (adenina y guanina); y pirimidinas (citosina y timina en el ADN y uracilo en el ARN).

Caracter – Atributo fenotípico observable de un organismo. Cualquier variación fenotípica detectable de un atributo hereditario concreto.

Citosina - Una de las cuatro bases que componen el ADN. La citosina siempre se empareja con la guanina.

Cladograma – Diagrama, en forma de árbol estilizado, que muestra las relaciones históricas entre los taxones.

Cuello de botella – Reducción en el tamaño de una población que puede tener una mayor influencia en la variación genética debido a la relación entre la deriva génica y el tamaño poblacional.

Delección - Alteración genética consistente en la pérdida de un segmento de ADN. Su magnitud es variable, pudiendo ser tan pequeñas como un solo par de bases o tan grandes que afecten a uno o más genes.

Densitometría - Método para identificar la dosis o la expresión génica mediante la medición de la absorción de la luz en una autorradiografía (película) de una banda (o mancha) que representa el ADN, el ARN o una muestra de proteínas.

Deriva génica – Fuerza que reduce la heterocigosidad por la pérdida aleatoria de alelos. Está inversamente relacionada al tamaño de la población. Poblaciones infinitamente grandes no experimentarán deriva génica, mientras que en poblaciones pequeñas son más grandes los efectos de la deriva.

Desnaturalización - Desplegamiento total o parcial de la conformación nativa de un polipéptido, una proteína o un ácido nucleico. Las proteínas con estructura terciaria, como lo son casi todas las enzimas y proteínas que desempeñan funciones de regulación, se desnaturalizan o despliegan al ser calentadas o cuando varía el pH de la disolución en la que se encuentran. Puede ser un proceso irreversible, que se acompaña de la pérdida de la actividad biológica y de la solubilidad de la molécula. En el caso de los ácidos nucleicos, no se considera

desnaturalización la pérdida de superenrollamiento, pero sí la desaparición de los puentes de hidrógeno entre cadenas complementarias.

Desoxinucleósido trifosfato (dNTP) - Éster trifosfórico de un nucleósido cuyo azúcar es la desoxirribosa. Los más comunes son cuatro: la desoxiadenosina-5'-trifosfato (dATP), la desoxiguanosina-5'-trifosfato (dGTP), la desoxicitidina-5'-trifosfato (dCTP) y la timidina-5'-trifosfato (dTTP).

Diploide - Dotación cromosómica consistente en la presencia del número total de cromosomas en una célula somática.

Distribuciones Mismatch - Cuenta el número de diferencias entre cada par de secuencias en una población y el resultado permite la construcción de un histograma.

Diversidad genética - Heterocigosidad esperada. Es la medida de variación genética en una población.

Efecto fundador - Se refiere a una alta frecuencia de un alelo particular en una población, después de haber estado presente en uno o más miembros de un pequeño número de individuos de los cuales la población es descendiente.

Electroforesis - Técnica utilizada para separar moléculas (proteínas o ácidos nucleicos) por su migración diferencial en una fase estacionaria sometida a un campo eléctrico. Según el material utilizado, permite la separación por peso o polaridad, permitiendo distinguir las variantes.

Endemismo - Que sólo ocurre en una localidad limitada. Las especies en las islas a menudo son endémicas (que no se han encontrado en continente adyacente). En general, altos niveles de endemismo sugieren una historia de aislamiento geográfico.

Estadísticos F - Herramienta que utiliza las frecuencias alélicas de diferentes localidades geográficas para estudiar el flujo génico o cuantificar la subdivisión de la población, ya que muestra una relación no lineal entre flujo génico y el grado de diferenciación genética entre las subpoblaciones.

Fenotipo - Características físicas y/o bioquímicas observables de la expresión de uno o varios genes. Conjunto de rasgos clínicos de un individuo con un genotipo determinado.

Flujo génico - Movimiento de alelos de una población a otra, causando una similitud entre ambas. La migración genética es la principal causa del flujo de genes.

Gen – En términos mendelianos: la unidad hereditaria de un organismo que gobierna el desarrollo de un carácter y puede existir en formas alternativas. En términos moleculares: la secuencia de ADN o de ARN que codifica uno o varios productos capaces de desempeñar una función específica generalmente fuera de su lugar de síntesis. Estos productos pueden ser polipéptidos (es el caso de la mayoría de los genes) o ARN (ARNt, ARNr).

Genealogía – Conjunto de linajes de un número de alelos durante cierto periodo de tiempo, mostrando la relación genética entre los alelos. Un sinónimo es árbol de colascencia.

Genoma - Conjunto de los genes de un individuo o una especie contenida en un juego haploide de cromosomas.

Genotipo – Los alelos presentes en un individuo en un locus bajo consideración. Alternativamente, la suma de todos los alelos presentes en un genoma.

Grupo externo (outgroup) – Taxón que filogenéticamente se encuentra fuera del clado de interés. Cuando se utiliza un grupo externo en análisis de filogenia, el grupo interno se supone implícitamente monofilético.

Guanina - Una de las cuatro bases que componen el ADN. La guanina siempre se empareja con la citosina.

Haploide - La mitad del número diploide o normal de cromosomas en una célula somática.

Haplotipo - Conjunto de alelos contenidos en un locus (o en varios loci) de una misma dotación haploide. El haplotipo podemos referirlo a un solo locus o a un genoma completo pero siempre se refiere a uno de los dos alelos de cada gen.

Inserción - Anomalía cromosómica en la que el material de un cromosoma se inserta en otro cromosoma; mutación en la que se inserta un segmento de ADN en un gen o en otro segmento de ADN, alterando potencialmente la secuencia codificante.

Indel – Acrónimo formado a partir de *inserción-delección (insertion-deletion)*.

Ladder – Serie de fragmentos de tamaño conocido que al correrlos en un gel, permite que el tamaño de los fragmentos de muestras de ADN se ejecuten en otras líneas. Definido como un indicador de peso molecular conocido.

Ligamiento – En una población, es la herencia simultánea y transmitida de un conjunto de marcadores de ADN específicos a lo largo de generaciones sucesivas sin que se produzca recombinación entre ellos.

Linaje – Línea de ascendencia de un determinado alelo a través de muchas generaciones.

Locus - Posición que un gen ocupa en el cromosoma o en la molécula de ácido nucleico que funciona como material hereditario.

Marcador genético - Cualquier gen de expresión fenotípica fácilmente distinguible que sirva para identificar al individuo o a la célula que lo lleva, o como sonda para marcar un núcleo celular, un cromosoma o un locus. En esta acepción es prácticamente sinónimo de ‘marcador molecular’.

Microsatélite - Segmentos repetitivos de ADN que comprenden de dos a cinco nucleótidos (repeticiones de dinucleótidos/trinucleótidos/ tetranucleótidos/ pentanucleótidos) dispersos por todo el genoma en las regiones no codificadoras que hay entre o dentro de los genes. Se utilizan frecuentemente como marcadores en el análisis de *ligamiento* debido a que el número de repeticiones es polimórfico entre los individuos de una población.

Migración – En genética de poblaciones, migración significa el movimiento continuo de genes dentro y fuera de una población.

Mitocondria – Orgánulo citoplásmico, autoreproducible, que se encuentra en las células eucariotas y que es el lugar de la síntesis del ATP.

Mutación - Cualquier cambio que modifica la secuencia de bases de un gen. Este cambio no redundará necesariamente en una modificación del producto o de la función del producto que el gen codifica, como es el caso de las mutaciones génicas silenciosas.

Nucleósido - Compuesto orgánico constituido por una base nitrogenada (púrica, derivada de la purina, o pirimidínica, derivada de la pirimidina) enlazada mediante el nitrógeno 1 de la pirimidina o el nitrógeno 9 de la purina al carbono 1 de una 2-desoxi-D-ribosa o de una D-ribosa a través de un enlace *N*-glucosídico de configuración β . Según que el azúcar sea la ribosa o la desoxirribosa, el nucleósido resultante se denomina ribonucleósido (*ribonucleoside*) o desoxirribonucleósido (*deoxyribonucleoside*).

Nucleótido - Molécula compuesta por una base nitrogenada (adenina, guanina, timina o citosina en ADN; adenina, guanina, uracilo o citosina en ARN), un grupo fosfato y un azúcar (desoxirribosa en ADN; ribosa en ARN). El ADN y el ARN son polímeros de muchos nucleótidos.

Oligo (cebador o primer) - Una secuencia corta de oligonucleótidos que se utiliza en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la creación de moléculas más largas de ADN.

Par de bases (pb) - Dos bases nitrogenadas unidas mediante enlaces débiles en el ADN de cadena doble; el emparejamiento específico de estas bases (adenina con timina y guanina con citosina) hace posible la replicación exacta del ADN; la cuantificación de los pares de bases se refiere a la longitud física de una secuencia de nucleótidos.

Polimorfismo - Un locus es polimórfico si varía en una población. Formalmente, un locus polimórfico debe tener al menos dos alelos con frecuencia $P > 1\%$.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) - Procedimiento que genera millones de copias de un segmento corto de ADN mediante ciclos repetidos de : (1) desnaturalización del ADN, (2) acoplamiento de los cebadores (oligonucleótidos sintéticos) y (3) extensión mediante la acción de la ADN polimerasa.

Recombinación - Intercambio de un segmento de ADN entre dos cromosomas homólogos durante la meiosis (aunque en algunas ocasiones se puede dar en mitosis), cuyo resultado es una combinación nueva de material genético en el gameto.

RFLP's (Restriction Fragment Length Polymorphism) - Polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción. Diferencia que se observa entre los mapas de restricción de dos individuos debida a la longitud distinta de algunos fragmentos de restricción. Puede utilizarse como marcador genético.

Región control - Región no codificante del ADN mitocondrial conocida también como d-loop. Consta de aproximadamente 1122 pb. Destaca por su elevada tasa de mutación y por ser muy variable entre las diferentes poblaciones.

Secuencia - Orden de unión de los monómeros en un biopolímero, por ejemplo, el orden de aminoácidos en un polipéptido (del extremo N al extremo C) o de nucleótidos en una hebra de ácido nucleico (del extremo 3' al extremo 5').

Secuenciación química - Procedimiento químico desarrollado para determinar la secuencia nucleotídica de una hebra de ADN. De forma resumida, consiste en marcar con ^{32}P uno de los extremos de la hebra de ADN (por ejemplo, el extremo 5') cuya secuencia de nucleótidos se quiere determinar (el ADN de partida puede ser monocatenario o bicatenario; en este último caso sólo una de las hebras debe estar marcada en el extremo 5' o 3' elegido).

Sitio de restricción - Secuencia de ADN que es reconocida por una endonucleasa (una proteína que corta el ADN) como el lugar en el que se cortará el ADN.

Sustitución – Es la más común de las mutaciones, donde sólo un par de bases cambia.

Taq polimerasa - Enzima encargada del copiado de las cadenas a partir de los cebadores. Se trata de una DNA polimerasa purificada de la bacteria termófila "*Thermus aquaticus*", y que por lo tanto es estable a temperaturas superiores a los 90°C.

Timina - Una de las cuatro bases que componen el ADN. La timina siempre se empareja con la adenina.

Transición - Sustitución de una base púrica por otra púrica (A por G o G por A) o de una base pirimidínica por otra pirimidínica (T por C o C por T) de modo que el eje púrico-pirimidínico se preserva. Se debe a fenómenos como la tautomería o la desaminación, o a la presencia de análogos de precursores de nucleótidos en el medio (por ejemplo, los análogos de base).

Transversión – Sustitución de una purina por una pirimidina y viceversa, de modo que el eje púrico-pirimidínico se invierte.

Páginas y literatura consultada para recabar la información:

<http://www2.math.su.se/matstat/biostat/BMC2/section2/genetic%20glossary.pdf>

<http://www.institutoroche.es/glosario.php?paraula1=a>

http://www.medtrad.org/glosarios/bio_molecular/Glosario/

<http://www.uwyo.edu/dbmcd/popecol/Maylects/PopGenGloss.html>

<http://www.ucl.ac.uk/~ucbhjow/b241/glossary.html>

Hernández-Baños, B. E., M. Honey-Escandón, M. N. Cortés-Rodríguez y G. García-Deras. La Ecología molecular de plantas y aves. Filogeografía de aves mexicanas. 15: 467-495.

Klung, W. S. y M. R. Cummings (1999). Conceptos de Genética. Quinta Edición. Prentice Hall. P: 814

12. BIBLIOGRAFÍA.

- Aijanabi, S.M y I. Martínez (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*. 22: 4692-4693p.
- Akaike H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*. 19: 716-723.
- Alaska Department of Fish and Game (2001). SPAM Version 3.7: Statistics Program of Analyzing Mixtures. Alaska Department of Fish and Game, Commercial Fisheries Division, Gene Conservation Lab.
- Allard M. W., M. M. Miyamoto, K. A. Bjorndal, A. B. Bolten y B.W. Bowen (1994). Support for natal homing in green turtles from mitochondrial DNA sequences. *Copeia* 1994: 34-41
- Amos, B. y A. R. Hoelzel (1991). Long term preservation of whale skin for DNA analysis. *Rep. Int. Whal. Comm. (special issue 13)*: 99-103
- Arnason, U., A. Gullberg y B. Widengren (1993). Cetacean mitochondrial DNA control region: Sequences of all extant baleen whales and two sperm whale species. *Mol. Biol. Evol.* 10: 960–970.
- Avise, J. C., D. Walker y G. Johnss (1998). Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 265: 1707–1712.
- Avise, J.C. (2000). *Phylogeography. The history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge.
- Baker, C. S., R. W. Slade, J. L. Bannister (1994). Hierarchical structure of mitochondrial DNA gene flow among humpback whales *Megaptera novaeangliae*, word-wide. *Molecular ecology*, 3, 313-327.
- Bass, A. L., C. J. Lagueux y B. W. Bowen (1998). Origin of Green Turtles (*Chelonia mydas*) at Sleeping Rocks” off the Northeast Coast of Nicaragua. *Copeia*. 1998:1064-1069.
- Bass, A. y W. Witzell (2000). Demographic composition of immature green turtles (*Chelonia mydas*) from the east central Florida coast: evidence from mtDNA markers. *Herpetologia* 56:357–367.
- Bowen, B. W., A. B. Meylan, J. P. Ross, C. J. Limpus, G. H. Balazs y J. C. Avise. 1992. Global Population structure and natural history of the green turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. *Evolution* 46:865-881.

- Bass, A. L., Epperly S. y J. Braun-McNeill (2006).** Green turtle (*Chelonia mydas*) foraging and nesting aggregations in the Caribbean and Atlantic: impact of currents and behavior on dispersal. *Journal of heredity*. 97(4):346–354.
- Bellini, C. y T. M. Sanches (1996).** Reproduction and feeding of marine turtles in the Fernando de Noronha Archipelago. Brazil. *Marine Turtles Newsletter* 74: 1213.
- Bellini, C., M. A. Marcovaldi, T. M. Sanches, A. Grossman y G. Sales (1996).** Atol das Rocas Biological Reserve: second largest *Chelonia* rookery in Brazil. *Marine Turtles Newsletter*, 72: 1-2.
- Benzie, J.A.H. (1999).** Genetic structure of coral reef organismos: ghost of dispersal past. *American Zoologist*. 39: 131-145.
- Bjorndal, K., Bolten A. y S. Troëng (2005).** Population structure and genetic diversity in green turtles nesting at Tortuguero, Costa Rica, based on mitochondrial DNA control region sequences. *Marine Biology*. 147: 1449-1457.
- Bjorndal, K., Bolten A., Moreira L., Bellini C. y A. Marcovaldi (2006).** Population Structure and Diversity of Brazilian Green Turtle Rookeries Based on Mitochondrial DNA Sequences. *Chelonian Conservation and Biology*. Vol. 5. No. 2. pp: 261-268.
- Bolker, B.M., Okuyama T., Bjorndal K.A. y A. Bolten (2007).** Incorporating multiple mixed stocks in mixed stock analysis: ‘many-to-many’ analyses. *Molecular ecology*. 16: 685-695.
- Bourjea J., Lapègue, Gagnevin I., Broderick D, Mortimer J. A ., Ciccione S., Roos D., Taquet C y H. Grizel (2007).** Phylogeography of green turtle (*Chelonia mydas*), in the Southwest Indian Ocean. *Molecular Ecology*.
- Bowen B. W., A. B. Meylan, J. P. Ross, C. J. Limpus, G. H. Balazs y J. C. Avise (1992).** Global population structure and natural history of the green turtle (*Chelonia mydas*) in terms of matriarchal phylogeny. *Evolution* 46: 865±881.
- Bowen, B. W., W. S. Nelson y J. C. Avise (1993).** A molecular phylogeny for marine turtles: Trait mapping, rate assessment, and conservation relevance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 90: 5574-5577.
- Bowen, B. W. y J. C. Avise (1995).** Conservation genetics of marine turtles. En: Avise, J.C. y J.L. Hamrick (eds) *Conservation Genetics: case histories from nature*. Chapman and Hall, New York.. pp. 190-237.

- Bowen, B. W. y S. A. Karl (1997).** Population genetics, phylogeography, and molecular evolution. In: Lutz, P.L. y J.A. Musick (eds.). The biology of sea turtles. CRC Press, CRC Press, Boca Raton, FL, pp 29–50
- Bowen, B. W. (2003).** What is a loggerhead turtle? The genetic perspective. In: Bolten AB, Witherington BE (eds) Loggerhead sea turtles. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp 7–27
- Brassel, K. E. y D. Reif (1979).** A procedure to generate Thiessen polygons. Geographical analysis, 11, 289-303.
- Broderick, D., C. Moritz, J. D. Miller, M. Guinea, R. I. T. Prince y C. J. Limpus (1994).** Genetic studies of the hawksbill turtle *Eretmochelys imbricata*: evidence for multiple stocks in Australian waters. Pacif. Cons. Biol. 1:123-131.
- Broderick, A. C., F. Glen, B. J. Godely y G. C. Hays (2002).** Estimating the number of green and loggerhead turtles nesting annually in the Mediterranean. Oryx 36: 227-235.
- Brown, J. R., A. T. Beckenbach y M. J. Smith (1993).** Intraspecific DNA sequence variation of the mitochondrial control region of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Mol. Biol. Evol.* 10: 326-341.
- Buitrago, J. y H. J. Guada. (2002).** La tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) en Venezuela. INCI. 27:392-399. ISSN 0378-1844.
- Carr, A. (1954).** The zoogeography and migrations of sea turtles. Yearbook of the American Philosophical Society; 1954, v. 1954 p. 138-140.
- Carr, A. (1967).** So excellent a Fish: A natural history of Sea Turtles. Scribner, New York, EE.UU.
- Carr, A. (1986).** Rips, FADS and little loggerheads. Bioscience 36
- Carr, A., M. H. Carr y A. B. Meylan (1978).** The ecology and migrations of sea turtles. 7. The West Caribbean green turtle colony. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 162: 1-46.
- Chacón, D. (2002a).** Assessment about the trade of the sea turtles and their products in the Central American isthmus. San José, Central American Regional Sea Turtle Conservation Network.
- Chakraborty, R. y M. Nei (1977).** Bottleneck effects on average heterozygosity and genetic distance with the stepwise mutation model. Evolution. 31: 347-356.
- Chaloupka, M., P. Dutton y H. Nakano (2004).** Status of sea turtle in the Pacific. Pages 135-164 en Papers presented at the Expert Consultation on Interactions between

- Sea Turtles and Fisheries within an Ecosystem Context. Rome, 9-12 March 2004. FAO Fisheries Report. No. 738, Suppl. Rome, FAO.
- Chassin-Noria, O., A. Abreu-Grobois, P. H. Dutton y K. Oyama (2004). Conservation genetics of the east Pacific green turtle (*Chelonia mydas*) in Michoacan, Mexico. *Genetics*. 1891: 1–12.
- Ciofi, C., G. A. Wilson, L. B. Beheregaray, C. Márquez, J. P. Gibbs, W. Tapia, H. L. Snell, A. Caccone y J. R. Powell (2006). Phylogeographic history and gene flow among Giant Galápagos Tortoises on Southern Isabela Island. *Genetics*. 172: 1727-1744.
- Cisneros, M. V., M. Otero, O. Miranda, J. L. Pérez, R. Rodríguez, M. Betancourt y E. Castillo (1999). Harina de caña enriquecida con proteínas (HCP) para la ceiba de pollos y peces. Informe Final de Proyecto Nacional Cod. 08-0030, Universidad Granma, Bayamo, Cuba, 45 p.
- Clement M., D. Posada y K. A. Crandall (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol Ecol*. 9:1657–1660.
- De Ruijter W. P. M., H. Ridderinkhof y R. E. Ludjeharms (2002). Observation of the flow in the Mozambique Channel. *Geophysical Research Letters*, **29**, 1401–1403.
- Delaunay, B. (1934). Sur la sphere vide. *Bulletin of the Academy of Sciences of the USSR*. 7: 793-800.
- Delgado, P. y Piñero, D. (2002). Sistemática filogeográfica y sus aplicaciones a la evolución y conservación de los bosques de coníferas en México: el caso de *Pinus montezumae* y *P. pseudostrobus*. *Acta universitaria*. 12: 3-19.
- Dethmers K., D. Broderick, C. Moritz, C. Limpus y N. N. FitzSimmons (2006). The genetic structure of Australasian green turtles (*Chelonia mydas*): geographic scale of genetic exchange. *Molecular Ecology*. Journal compilation.
- Donguy J. R. y B. Piton (1991). The Mozambique Channel revisited. *Oceanologica Acta*, **14**, 549–558.
- Dupanloup, I., S. Schneider y L. Excoffier (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular ecology*. 11: 2571-2581.
- Dutton, P. (1996). Use of molecular makers for stock identification, fingerprinting, and the study of mating behavior in leatherback turtles. *In.*- Bowen, B. W. and W.N. Witzell.(Editors). *Proceedings of the International Symposium on Sea Turtle*

- Conservation Genetics. NOAA Technical Memorandum NMF-.SEFSC- 396.173 pp.
- Encalada, S. E., P. N. Lahanas, K. A. Bjorndal, A. B. Bolten, M. M. Miyamoto y B.W. Bowen (1996). Phylogeography and population structure of Atlantic and Mediterranean green turtle *Chelonia mydas*: a mitochondrial DNA control region sequence assessment. *Molecular Ecology*. 5: 473-484.
- Engstrom, D. R., B. C. S. Hansen y H. E. Wright Jr. (1990). A possible Younger Dryas record in southeastern Alaska. *Science*. 250: 1383-1385.
- Espinosa, G., G. Hernández., M. Jager, K. Olavarría, M. E. Ibarra, M. Masselot y J. Deutch (2000). Genetic identification of a Nesting Colony of Green Turtles, *Chelonia mydas*, from the Western Cuban Shelf. 19th Annual Sea Turtle Symposium. p. 121-123
- Excoffier, L., Smouse, P. y J. Quattro (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*. 131: 479-491.
- Excoffier, L.G. Laval, y S. Schneider (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- FitzSimmons, N. N., C. Moritz y S. S. Moore (1995). Conservation and dynamics of Microsatellite loci over 300 million years of marine turtle evolution. *Mol. Biol. Evol.* 12(3): 432-440.
- FitzSimmons, N. N., C. Moritz, C. J. Limpus, L. Pope y R. Prince (1997). Geographic Structure of Mitochondrial and Nuclear Gene Polymorphisms in Australian Green Turtle Populations and Male-Biased Gene Flow. *Genetics* 147: 1843-1854
- Frankham, R. 1995. Conservation Genetics. *Ann. Rev. Genetics*. 29: 305-327.
- FitzSimmons, N. N., C. Moritz y B. W. Bowen (2000). Identificación de poblaciones. pp. 83-91. En: K. L. Eckert, K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly (eds.) Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. UICN/CSE Grupo especialista en Tortugas Marinas. Pub. No. 4.
- Formia A. (2002). Population and genetic structure of the green turtle (*Chelonia mydas*) in West and Central Africa; Implications for management and conservation. PhD Thesis, Cardiff University, UK.

- Formia A., Godley B. J., Dontaine J. F. y M. W. Bruford (2006). Mitochondrial DNA diversity and phylogeography of endangered green turtles (*Chelonia mydas*) populations in Africa. *Conservation genetics* 7:353-369.
- Formia A., A. C. Broderick, F. Glen, B. J. Godley, G. C. Hays y M. W. Bruford (2007). Genetic composition of the Ascension Island green turtle rookery based on mitochondrial DNA: implications for sampling and diversity. *Endangered species research*. Vol. 3: 145-158.
- Frankham, R. (1995). *Conservation Genetics*. *Ann. Rev. Genetics*. 29: 305-327.
- Frazier, J. G. (1975). Marine turtles in the western Indian Ocean. *Oryx* 13: 162-175.
- Frazier, J. G. (1979). Marine turtle management in the Seychelles: a case-study. *Environ. Conserv.* 6: 225-230.
- Frazier, J. G. (1999). Community-Based Conservation. In: Eckert, K. L. , K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois y M. Donnelly (eds). *Research and Management Techniques for the conservation of sea turtles*. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication. 4: 15-18.
- Fu, Y.X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*. 147: 915-925.
- García-Rodríguez, A. I., B. W. Bowen, Domming D. *et al.* (1998). Phylogeography of the West Indian manatees (*Trichechus manatus*): how many populations and how many taxa? *Molecular Ecology*, 7, 1137-1149.
- Garduño, M., *et al.* (2001). Especies sujetas a protección especial. Tortuga blanca, *Chelonia mydas*. pp. 1049-1064. En: M. A. Cisneros, L. F. Beléndez, E. Zárate, M. T. Gaspar, L. C. López, C. Saucedo y J. Tovar (eds.). *Sustentabilidad y Pesca Responsable en México. Evaluación y Manejo. 1999-2000*. Publicado en CD. Instituto Nacional de la Pesca/SEMARNAT. México.
- Gates, D. M. (1993). *Climate Change and its Biological Consequences*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, EE.UU.
- Goudet, J., M. Raymond, T. De Meeüs y F. Rousset (1996). Testing differentiation in diploid populations. *Genetics*, 144: 1933-1940.
- Grant, P. R., B. R. Grand y K. Petren (2001). A population founded by a single pair of individuals: Establishment, expansion and evolution. *Genetica*, 112-113: 359-382.
- Hall, T. A. (1999). *BioEdit: Nucl. Acids. Symp. Ser*, 41: 95-98.

- Hasegawa, M., K. Kishino y T. Yano (1985). Dating the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of molecular evolution*, 92: 656-663.
- Hernández-Baños, B. E., M. Honey-Escandón, M. N. Cortés-Rodríguez y G. García-Deras. La Ecología molecular de plantas y aves. *Filogeografía de aves mexicanas*. 15: 467-495.
- Herrán, A., S. Espinel y P. G. Goicoechea (1999). Utilización del polimorfismo del ADN de cloroplastos para definir regiones de procedencia materna en los robles blancos de la Península Ibérica. 8: 139-150.
- Holgate, P. (1966). A mathematical study of the founder principle of evolutionary genetics. *J. Appl. Prob.* 3: 115-128.
- Holm, S. (1979). A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, 6, 65-70
- Hughes, G. R. (1974). The sea turtles of south-east Africa. II. The biology of the Tongaland loggerhead turtle *Caretta caretta* L. with comments on the leatherback turtle *Dermochelys coriacea* L. and the green turtle *Chelonia mydas* L. in the study region. *Invest Rep oceanogr Res Inst, Durban* 36: 1-96.
- Hykle, D. J. (1992). The migratory species (Bonn) convention and marine turtle conservation. In: Salmon M. Wyneken J (compilers). *Proceedings of the 11th Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-302, National Technical Information Service, Springfield, Virginia, pp 61-63.
- Ingle, R. M. Y F. G. W. Smith (1949). *Sea Turtles and the Turtle industry of the West Indies, Florida and the Gulf of Mexico (First Edition)*. Univ. Miami Press, Florida.
- Jin, L. y M. Nei (1990). Limitations of evolutionary parsimony method of phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.* 7: 82-102.
- Johnson, K. P., F. R. Adler y J. L. Cherry (2000). Genetic and phylogenetic consequences of island biogeography. *Evolution*. 54: 387-396.
- Johnson, K. P. (2003). Island biogeography and evolution: Genetic divergence and speciation of island taxa. *Comments of Theoretical Biology*. 8: 339-356.
- Johnson, K. (2005). *Las Tortugas Marinas de México*. Ed. Planeta.

- Karl, S., B. W. Bowen y J. C. Avise (1992).** Global population structure and male-mediated gene flow in the green turtle (*Chelonia mydas*): RFLP analyses of anonymous nuclear DNA regions. *Genetics* 131:163-173.
- Kaska, Y. (2000).** Genetic Structure of Mediterranean Sea Turtle Populations. *Turk J. Zool.* 24: 191–197.
- King, F. W. (1982).** Historical review of the decline of the green turtle and hawksbill. In *Biology and Conservation of Sea Turtles*, ed. K.A. Bjorndal, pp. 183-188. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- Kimura, M. (1980).** A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.
- Kinzel, M. (2001).** Satellite tracking of green sea turtles in the Gulf of Mexico. *Argos Newsletter.* 58: 4-7.
- Kudrass, H. R., H. Erlenkeuser, R. Vollbrecht y W. Weiss (1991).** Global nature of the Younger Dryas cooling event inferred from oxygen isotope data from Sulu Sea cores. *Nature.* 349:406-409.
- Kumar, S., K. Tamura y M. Nei. (1993).** MEGA: molecular evolutionary genetics analysis, ver. 1.01. Pennsylvania State University, University Park.
- Kumar, S., K. Tamura, I. B. Jakobsen y M. Nei (2001).** MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. *Bioinformatics.*
- Lahanas P. N., M. M. Miyamoto, K. A. Bjorndal y A. B. Bolten (1994).** Molecular evolution and population genetics of Greater Caribbean green turtles (*Chelonia mydas*) as inferred from mitochondrial DNA control region sequences. *Genetics.* 94: 57-66.
- Lahanas P. N., K. A. Bjorndal, A. B. Bolten, S. E. Encalada, M. M. Miyamoto, R. A. Valverde y B. W. Bowen (1998).** Genetic composition of a green turtle (*Chelonia mydas*) feeding ground population: evidence for multiple origins. *Marine Biology.* 130:345-352
- Laurent L., Casale P, M. N. Bradai, B. J. Godley, G. Gerosa, A. C. Broderick, W. Schroth, B. Schierwater, A. M. Levy, D. Freggi, E. M. Abd El-Mawla, D. A. Hadoud, H. E. Gomati, M. Domingo, M. Hadjichristophosou, L. Kornaraky, F. Demirayak y C. H. Gautier (1998).** Molecular resolution of marine turtle stock composition in fishery bycatch: a case study in the Mediterranean. *Mol Ecol* 7:1529–42.

- Li, C. C. (1976). Population genetics. Boxwood, Pacific Grove, California.
- Li, W.H. (1977). Distribution of nucleotide differences between two randomly chosen cistrons in a finite population. *Genetics*. 85: 331-337.
- Limpus, C. J. (1992). The hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, in Queensland: population structure within a southern Great Barrier Reef feeding ground. *Wild. Res.* 19: 489-506.
- Luke, K., J. A. Horrocks, R. A. LeRoux y P. H. Dutton (2004). Origins of green turtle (*Chelonia mydas*) feeding aggregations around Barbados, West Indies. *Marine Biology*. 144: 799-805.
- Lutjeharms J. R. E., N. D. Bang, C. P. Duncan (1981). Characteristics of the currents east and south of Madagascar. *Deep-Sea Research*, 28A, 879–899.
- MacArthur, R. H. y E. O. Wilson (1963). An equilibrium theory of insular zoogeography. *Evolution*. 17: 373-387.
- MacArthur, R. H. y E. O. Wilson (1967). The theory of island biogeography. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Manni, F., E. Guérard y E. Heyer (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Human biology*. 76(2): 173-190.
- Márquez, R. (1996). Las Tortugas Marinas y Nuestro Tiempo. Fondo de Cultura Económica. México. 101p.
- McElroy D. *et al* (1992). REAP: an integrated environment for the manipulation and phylogenetic analysis of restriction data. *J. Heredity* 83: 157-158.
- Medrano-González, L. (2006). Hacia una dinámica de la mastofauna marina mexicana: análisis de composición funcional y de algunas estructuras genéticas poblacionales. *Genética y mamíferos marinos: presente y futuro*. New Mexico Museum of Natural History and Science. Bulletin No. 32.
- Meylan, A. B. (1982). Sea turtle migrations-evidence from tag returns, pp. 91-100 in *Biology and Conservation of Sea Turtles*, edited by K. A. BJORN DAL. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C
- Meylan, A. B. y P. A. Meylan (1999). Introduction to the evolution, life history and biology of sea turtles, p. 3-5, en K.L. Ecker, K.A. Bjorndal, F.A. Abreu-Grobois, y M. Donnelly (eds). *Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles*. IUCN/SSC Marine turtle specialist Group Publication No. 4.

- Miller, J. (1997). "Reproduction in Sea Turtles", en Lutz, P. y Musick, J. A. *The Biology of Sea Turtles*, pp-71-81. Florida, CRC Marine Science Series.
- Moncada, F. *et. al.* (2006). Migration patterns of the green turtle (*Chelonia mydas*) in Cuban waters as evidenced by tag and recapture studies. *Herpetology*.
- Moritz, C. (1994). Defining "Evolutionary Significant Units" for conservation. *Elsevier Science*. 9: 373-375.
- Moritz, C., D. Broderick, K. Dethmers, N. FitzSimmons y C. Limpus (2002). Population genetics of Southeast Asian and Western Pacific green turtles, *Chelonia mydas*. Final Report to UNEP/CMS. 42 pp.
- Naro-Maciel E., J. E. Becker, E. Lima, M. A. Marcovaldi y R. De Salle (2007). Testing dispersal hypotheses in foraging green sea turtles (*Chelonia mydas*) in Brazil. *Journal of heredity*. 98(1):29–39.
- Nei, M. y D. Graur (1984). Extent of protein polymorphism and the neutral mutation theory. *Evolutionary Biology*. 17: 73-118.
- Nei, M. y W. H. Li (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 76: 5269-5273.
- Nei, M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press. New York.
- Nei, M. y S. Kumar (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Nietchmann, B. (1982). The cultural context of sea turtle subsistence hunting in the Caribbean and problems caused by commercial exploitation, p: 439-445. En: K.A. Bjorndal (ed). *Biology and Conservation of Sea turtles*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- NORGEN (2004). DNA Quantification by Gel Densitometry with Norgen DNA Ladders. [http:// www.norgenbiotek.com](http://www.norgenbiotek.com)
- Norman, J. A, Moritz C. y C. J. Limpus (1994) Mitochondrial DNA control region polymorphisms: genetic markers for ecological studies of marine turtles. *Molec Ecol* 3:363–373.
- Norman, J.A. (1996). Conservation genetics of the green turtles (*Chelonia mydas*). PhD thesis. Department of Zoology and the Centre for Conservation Biology. University of Queensland.
- O’Corry-Crowe, G. M., R. S. Suydam, A. Rosenberg, K. J. Frost y A. E. Dizon (1997). Phylogeography, population structure and dispersal patterns of the beluga whale

- Delphinapterus leucas* in the western Nearctic revealed by mitochondrial DNA. *Molecular ecology*. 6: 955-970.
- Okuyama T. y B. M. Bolker (2005). Combining genetic and ecological data to estimate sea turtle origins. *Ecological applications*. 15: 315-325.
- Parsons, J. (1962). *The Green turtle and Man*. University of Florida Press, Gainesville, FL.
- Peakall, R. y P. E. Smouse (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6: 288-295.
- Pearce, A. F. (2001). *Constrasting Population Structure of the Loggerhead Turtle (Caretta caretta) using Mitochondrial and Nuclear DNA Markers*. MS Thesis, University de Florida, Gainesville, FL.
- Pella, M. y J. Masuda (2001). Bayesian methods for analysis of stock mixtures from genetic characters. *NOAA Fishery Bulletin* 99(1): 151-167.
- Pella, J. J. y M. M. Masuda (2005). Classical discriminant analysis, classification of individuals, and source population composition of mixtures. In: *Stock identification Methods: Applications in Fishery Science* (eds Cadrin SX, Friedland KD, Waldman Stock JR), pp. 517-552. Elsevier Academic Press, Burlington, Massachusetts.
- Pella, J. J. y G. B. Milner (1987). Use of genetic marks in stock composition analysis. In *Population genetics and fishery management*: 247–276. Ryman, N. y Utter, F. (Eds). Seattle: University of Washington Press.
- Pfenninger, M. y D. Posada (2002). Phylogeographic history of the land snail *Candidula unifasciata* (Helicellinae, stylommatophora): fragmentation, corridor migration, and secondary contact. *Evolution*. pp 56 (9): 1776-1788.
- Piton B y Y. Magnier (1976). Les conditions favorables de la présence des thons de surface dans les parages de Madagascar. *ORSTOM*, 47, 293–309.
- Piton B., J. H. Pointeau y J. S. Ngoumbi (1981) Les conditions favorables à la présence de thons de surface dans les parages de Madagascar. *ORSTOM*, 132, 1–14.
- Piton B. y J. Laroche (1993). Quelques caractéristiques hydroclimatiques du sud de Madagascar. *Bulletin Océanographique Des Pêches*, 37, 46–54.
- Posada D. y K. A. Crangall (1998). Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14 (9): 817-818.

- Posada, D. (2003). Selecting models of evolution. In: *The phylogenetic handbook* (eds. Vandemme A, Salemi M), pp. 256-282. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Pritchard, P. C. H. y J. A. Mortimer (1999). Taxonomía, Morfología Externa e Identificación de las Especies. pp. 23-41. En: K. L. Eckert, K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois, M. Donnelly (eds.) Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. UICN/CSE Grupo especialista en Tortugas Marinas. Pub. No. 4. Márquez, R. 1996. Las Tortugas Marinas y Nuestro Tiempo. Fondo de Cultura Económica. México. 101p.
- R** Development Core Team. (2006). R: a language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>
- Raymond M. y F. Rousset (1995). An exact test for population differentiation. *Evolution* 49:1280-1283.
- Reece J. S., T. A. Castoe y C. L. Parkinson (2005). Historical perspectives on population genetics and conservation of three marine turtle species. *Conservation genetics* 6: 235-251.
- Roberts, M., T. S. Schwartz y S. A. Karl (2004). Global Population Genetic Structure and Male-Mediated Gene Flow in the Green Sea Turtle (*Chelonia mydas*): Analysis of Microsatellite Loci Department of Biology, University of South Florida, pp. 1857-1870.
- Roff, D. A. y P. Bentzen (1989). The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: X^2 and the problem of small samples. *Mol. Biol. Evol.* 6: 539-545.
- Rogers, A. R. y H. Harpending. (1992). Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.* 9: 552-569.
- Rogers, A. R. (1995). Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. *Evolution*, 49: 608-615.
- Rohling, E. J., M. Fenton, F. J. Jorissen, P. Bertrand, G. Ganssen y J. P. Caulet (1998). Magnitudes of sea-level lowstand of the past 500,000 years. *Nature*. 394: 162-165.
- Rousset, F. (1996). Equilibrium values of measures of population subdivision for stepwise mutation processes. *Genetics* 142: 1357-1362.
- Saccone, C., M. Attimonelli y E. Sbisá (1987) Structural Elements highly preserved during the evolution of the d-loop containing region in vertebrate mitochondrial DNA. *J. Mol. Evol.* 26: 205-211.

- Sang, T.K., H. Y. Chang, C. T. Chen y C. F. Hui (1994). Population structure of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Mol. Biol. Evol.* 11: 250-260.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*. 236: 787-792.
- Slatkin M. (1991). Inbreeding coefficients and coalescence times. *Genet. Res. Camb.* 58: 167-175.
- Slatkin, M. (1994). Linkage disequilibrium in growing and stable populations. *Genetics*. 137: 331-336.
- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*. 139: 457-462.
- Schneider, S., J. M. Kueffer, D. Roessli y L. Excoffier (2000). Arlequin: A software for population genetics data analysis. Version 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept. of Anthropology, University of Geneva.
- Seminoff, J. (2002). Global status of the green turtle (*Chelonia mydas*). In: Kinan, I. (Ed.), Proceedings of the Western Pacific Sea Turtle Cooperative Research & Management Workshop. Western Pacific Regional Fishery Management Council, Honolulu, pp. 197–211.
- Seminoff, J. (2004). Marine Turtle Specialist Group Red List global assessment of the green sea turtle (*Chelonia mydas*). World Conservation Union (IUCN). Gland, Switzerland.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf (1981). *Biometry*, 2nd Ed. W. H. Freeman and Co., San Francisco. [CA]
- Spiegelhalter D., A. Thomas, N. Best y D. Lunn (2003). WINBUGS, version 1.4. user manual. MRC Biostatistics Unit, Cambridge, UK.
- Stewart, F. M. (1977). Computer algorithm for obtaining a random set of allele frequencies for a locus in an equilibrium population. *Genetics*. 86: 482-483.
- Stewart, D. T. y J. Baker (1994). Patterns of sequence variation in the mitochondrial d-loop region of shrews. *Mol. Biol. Evol.* 11: 9-21.
- Stoneking, M., D. Hedgecock, R. G. Higuchi, L. Vigilant y H. A. Erlich (1991). Population variation of human mtDNA control region sequences detected by enzymatic amplification and sequence-specific oligonucleotide probes. *Am J Hum Genetic.* 48(2): 370-382.
- Tajima, F. (1983). Evolutionary relationship of DNA sequence of finite populations. *Genetics*. 105: 437-460.

- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123, 585-595.
- Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition – transversion and G+C content biases. *Mol. Biol. Evol.* 9: 678-687.
- Templeton, A. R., K. A. Crandall y C. F. Sing (1992). A Cladistic Analysis of Phenotypic Associations with haplotypes Inferred from Restriction Endonucleases Mapping and DNA Sequence Data. III. Cladogram estimation. *Genetics*. 132: 619-633.
- Templeton, A. R., E. Routman y C. A. Phillips (1995). Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander *Ambystoma tigrinum*. *Genetics*, 140: 769-782.
- Templeton, A.R. (2001). Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status processes. *Molecular ecology*. 10: 779-791.
- Thompson, J. D., D. G. Higgins y T. J. Gibson (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22:4673-4680.
- Troëng, S. y M. Chaloupka (2007). Variation in adult annual survival probability and remigration intervals of sea turtles. *Mar. Biol.* 151: 1721-1730.
- Utter, F. y N. Ryman (1993). Genetic markers and mixed stock fisheries. *Fisheries* 18: 11-21.
- Velez-Zuazo, X., W. D. Ramos, R. P. Van Dam *et al.* (2008). Dispersal, recruitment and migratory behaviour in a hawksbill sea turtle aggregation. *Molecular ecology*, 17: 839-853.
- Vianna, J. A., R. K. Bonde, S. Caballero, J. P. Giraldo, R. P. Lima, A. Clark, M. Marmontel, B. Morales-Vela, M. J. de Souza, L. Parr, M. A. Rodríguez-López, A.A. Mignucci-Giannoni, J. A. Powell y F. R. Santos (2006). Phylogeography, phylogeny and hybridization in trichechid sirenians: implications for manatee conservation. *Molecular ecology*. 15: 433-447.
- Voronoi, M. G. (1908). Nouvelles applications des paramètres continus à la théorie des formes quadratiques, deuxième mémoire, recherché sur les paralléloèdres primitifs. *Journal of Reine Angewandte Mathematik*. 134: 198-287.

- Weber, J. L., y P. E. May (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.* 44:388-396.
- Weir, B. S., y C. C. Cockerham (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution.* 38: 1358-1370.
- Weir, B. S. (1996). *Genetic data analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data.* Sinauer Assoc., Ind. Sunderland, MA, USA.
- Weir, B. S. (1997). Intraspecific differentiation. 385-406 En: Hillis, DM, C. Moritz, y BK Mable (eds) *Molecular systematics.* Sinauer Associates Inc., Mass. USA.
- Weissenbach, X., G. Gyapay, C. Dib, A. Vignal, J. Morisset y P. Millasse (1992). A second-generation linkage map of the human genome. *Nature* 359: 794-801.
- Wenink, P. W., A. J. Baker y M. G. J. Tilanus (1994). Mitochondrial control-region sequences in two shorebirds species, the turnstone and the dunlin, and their utility in population genetic studies. *Mol. Biol. Evol.* 11: 22-31.
- White, P. C. y L. D. Densmore (1992). Mitochondrial DNA Isolation. pp. 29-58 En: A.R. Hoebel (ed). *Molecular Genetic Analysis of Populations: a practical approach.* IRL Press at Oxford University Press, N.Y.
- Witham, R. M. (1980). The "lost years" question in young sea turtles. *Am Zool* 20: 525-30.
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Ann.Eugen.* 15: 323-354.
- Wyneken, J. y M. Salmon (1992). Frenzy and post frenzy swimming activity in loggerhead, green and leatherback hatchling sea turtles. *Copeia*, 1992: 478-484.
- Zaykin, D. V. y A. I. Pudovkin (1993). Two programs to estimate significance of chi² values using pseudo-probability tests. *J. Heredity* 84: 152-153.
- Zink, R. M., S. Rootes y D. L. Dittmann (1991). Mitochondrial DNA variation, population structure and evolution of common grackle (*Quiscalus quiscula*). *The condor.* 93: 318-329.

13. ANEXOS.

ANEXO I

Colección y preservación (sin refrigerar) de tejido sólido para análisis genético del ADN

(Modificado del protocolo de Brian Bowen)

MÉTODOS PARA LA COLECTA DE TEJIDO:

1. Colectar unos cuantos gramos de tejido. Generalmente es suficiente una muestra del tamaño de una canica.
2. Rebanar el tejido con la navaja para favorecer la penetración del buffer.
3. Meter el tejido en un tubo rotulado conteniendo buffer SED.
4. Se puede almacenar las muestras a temperatura ambiente durante varios meses, o en refrigerador hasta un año. Evitar la exposición al calor o luz solar.
5. Revisar que queden bien sellados los tubos y guardarlos en doble bolsa de plástico cerrada herméticamente para evitar fugas.

PREPARACIÓN DEL BUFFER SED

1. Añadir 180 g de EDTA-Na₄ a 1,400 ml de agua dest.
2. Ajustar el pH a 7.5 con Ácido acético glacial ó NaOH
3. Añadir 350 g de NaCl y disolver.
4. Añadir 400 ml DMSO (Dimetil sulfóxido).
5. Aforar a 2 litros con agua destilada.

ANEXO II

Colección y preservación (sin refrigerar) de sangre para análisis genético del ADN (Modificado del protocolo de Brian Bowen y de White & Densmore, 1992)

Métodos para la colecta de sangre:

1. Colectar 1-2 ml de sangre del adulto ó 0.2 ml de una cría, extrayendo la misma del seno dorsal cervical.
2. Mezclar la sangre inmediatamente con el buffer lítico en el tubo de plástico en una proporción 1:10 sangre:buffer.
3. Invertir cuidadosamente el tubo varias veces para mezclar. Algunas veces se obtendrá una solución parcial de la sangre.
4. Se puede almacenar las muestras a temperatura ambiente durante varios meses, o en refrigerador hasta un año. Evitar exposición al calor o luz solar.
5. Revisar que quedaron bien sellados los tubos y guárdelos en doble bolsa de plástico cerrada herméticamente para evitar fugas.

PREPARACIÓN DEL BUFFER LÍTICO SDS

1. 76.04 g de EDTA-Na₄ (conc. final 100mM).
2. 24.22 g de Tris (conc. final 100mM).
3. 1.17 g de NaCl (conc. final 10mM)
4. 20 g SDS (conc. final 1% pes/vol).
5. Aforar a 2 litros con agua destilada y ajustar el pH a 8.0 con HCl.

ANEXO III

Extracción de ADN utilizando Cloruro de Litio (LiCl)

(Aijanabi y Martínez, 1997)

1. Cortar ~50 mg de tejido con una navaja tan finamente como sea posible. Si se usa sangre en buffer de lisis, tomar 200 µl de sangre. Si la sangre está congelada es más sencillo tomar este volumen raspando el material congelado y transferirlo a un tubo vacío para medir el volumen aproximado contra las marcas al lado del tubo.
2. Colocar el tejido en un tubo Eppendorf de 1.5 ml y agregar 350 µl de buffer de extracción (100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 1% SDS, 10 mM EDTA, pH 8.0). Asegurarse de que no queda nada de tejido adherido alrededor de la boca del tubo. Si es sangre, aforar a 400 µl con buffer de extracción (es decir, añadir 200 µl del buffer).
3. Agregar 20 µl de proteinasa K (20 mg/ml) y agitar brevemente.
4. Colocar en baño maría o en rotador en incubadora a 55 °C toda la noche o hasta que el tejido esté suficientemente digerido.
5. Agregar 300 µl de LiCl 5M y agitar a temperatura ambiental por un minuto.
6. Agregar 600 µl de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y agitar brevemente.
7. Mezclar en el rotador a temperatura ambiente durante 30 minutos aproximadamente.
8. Centrifugar a 13,000 X g por 15 minutos.
9. Extraer con pipeta 500 µl de la capa acuosa (parte superior) y transferir a un nuevo tubo eppendorf de 1.5 ml. Tener cuidado de no extraer material de la interfase (capa media). En caso de extraer parte de esta, regresar la muestra al tubo y centrifugar por 5 minutos para después repetir este paso.
10. Agregar 50 µl de acetato de sodio 3 M pH 5.2 y 1000 µl de etanol al 100% frío.
11. Invertir el tubo varias veces y colocarlo en el congelador a -20 °C por lo menos una hora (o 30 minutos a -80°C). También puede dejarse toda la noche.
12. Centrifugar a máxima velocidad por 20 minutos. Para obtener mayor cantidad de ADN puede ponerse una centrifuga pequeña en el refrigerador (4 °C).
13. Remover el líquido del tubo teniendo cuidado de no perder el pellet de ADN.
14. Agregar 750 µl de etanol al 70% y mezclar por 15 minutos a temperatura ambiente.
15. Centrifugar a máxima velocidad por 5 minutos.
16. Remover el etanol con sumo cuidado.

- 17.** Secar el pellet en centrifuga de vacío por 10 minutos o hasta que esté seco.
- 18.** Agregar 50 μ l de TE 1x pH 8.0 para resuspender el pellet. Si se nota que hay mucho DNA se debe aumentar la cantidad de TE.
- 19.** Permitir que el pellet se resuspenda a 4 °C durante la noche o 30 minutos a temperatura ambiente.
- 20.** Mezclar la muestra para asegurar que el pellet está totalmente disuelto.
- 21.** Para estimar la calidad y cantidad de ADN, correr un minigel de agarosa 1% (3 μ l de ADN y 2 μ l de loading buffer).

ANEXO IV

Método de densitometría para medir concentración de ADN

- 1.** Hacer una dilución 1:10 de cada muestra de ADN.
- 2.** Poner 2 μ l de muestra más 2 μ l de Dye por pozo.
- 3.** Poner 5 μ l de Ladder.
- 4.** Correr la electroforesis durante 1:20 hr a un voltaje de 48-50 V, en el caso del ADN, y durante 1:30 hr a un voltaje de 37 V, en el caso de la PCR.
- 5.** Sumergir el gel en la solución de Bromuro de Etidio durante 30 minutos.
- 6.** Tomar la foto.
- 7.** Pasar la imagen al programa COREL Photo Paint-12. Separar en canales RGB y utilizar el Rojo. Invertir los colores. Guardar en formato Tif.
- 8.** Exportar imagen al programa SCION Image. Medir en una escala de Pixeles.
- 9.** Tomar el área de cada banda (Ladder, muestras de ADN y blanco).
- 10.** Cargar los resultados en la plantilla de Excel, y ubicarlos en la posición que les corresponda para que efectúe los cálculos.

ANEXO V

Protocolo de purificación de productos de PCR con el Kit MinElute de Qiagen

1. **Colocar 5 volúmenes de buffer PBI por cada 1 volumen de la reacción de PCR y mezclar.** No es necesario remover aceites minerales o keroseno. Ej. a 50 μ l de la reacción de PCR (no incluyendo aceite) adicionar 250 μ l de Buffer PBI.
2. **Asegurarse que el color de la mezcla sea amarillo (parecido al Buffer PBI sin la muestra de PCR).** Si el color de la mezcla es naranja o violeta, adicionar 10 μ l de acetato de sodio 3M, pH 5.0, y mezclar. El color de la mezcla se debe tornar amarilla.
3. **Poner una columna MinElute en uno de los tubos de colecta de 2 ml y colocarlo en un rack apropiado.**
4. **Para pegar (asociar) el ADN, aplicar la muestra en la columna MinElute y centrifugar¹ por 1 min.** Para tener máxima recuperación, transferir todas las trazas de la muestra a la columna.
5. **Desechar el fluido que pasa por la columna. Poner la columna MinElute de regreso en el tubo de colecta.**
6. **Para lavar, agregar 750 μ l Buffer PE a la columna MinElute y centrifugar por 1 min.**
7. **Desechar el fluido que pasa por la columna y poner la columna MinElute de regreso en el tubo de colecta. Centrifugar la columna por 1 min. más a máxima velocidad.**

IMPORTANTE: El etanol residual del Buffer PE no será completamente eliminado a menos que el fluido que pasa sea desechado antes de la centrifugación adicional.

8. **Poner la columna MinElute en un tubo limpio de microcentrifuga de 1.5 ml.**
9. **Para eluir el ADN, añadir 10 μ l de Buffer EB (10 mM Tris-Cl, pH 8.5) o agua al centro de la membrana, dejar que la columna repose por 1 min. y luego centrifugar por 1 min.**

IMPORTANTE: Asegurar que el buffer de elusión se dispensa directamente al centro de la membrana para lograr una completa elusión del ADN pegado (asociado). El volumen promedio de la elusión resultante es de 9 μ l a partir de un volumen de 10 μ l de buffer de elusión.

La eficiencia de la elusión depende del pH. La máxima eficiencia de ésta se consigue entre pH 7.0 y 8.5.

Si se estará analizando el ADN en una gel, agregar 1 volumen de LOADING DYE a 5 volúmenes de ADN purificado. Mezclar la solución pipeteando arriba y abajo antes de cargar la gel.

El dye de carga (loading dye) contiene 3 tintes marcadores (bromofenol azul, cyanol de xileno y naranja G) que facilita estimación de la distancia de migración del ADN y la optimización del tiempo de corrida en la gel de agarosa.

¹ Todos los pasos de las centrifugaciones son de $\geq 10,000 \times g$ en una microcentrífuga convencional a temperatura ambiente.

ANEXO VI

Base de datos de las muestras generadas para la investigación

Prof.	Tejido	Fecha de ingreso	Núm. cat	Núm. de marca	Fecha desove	Fecha colecta	Clave sexo	Hábitat	Núm. nidó	Playa	Estado	Región	Fecha extracción	Fecha PCR	Oligos	Núm. PCR	Haplotipo	Observaciones
Cm	H	14/11/2006	346	XQ804 Y XQ805	14/06/2006	03/08/2006	Crías	Anidación	17	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4056	CM-A3	La long. del caparacho de las 14 sig. Muestras
Cm	H	14/11/2006	347	FPF122 Y XJ885	15/06/2006	07/08/2006	Crías	Anidación	19	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4057	CM-A5	tomadas de las crías.
Cm	H	14/11/2006	348	XQ811 Y FPF116	18/06/2006	07/08/2006	Crías	Anidación	25	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4058	CM-A3	Estas 14 muestras
Cm	H	14/11/2006	349	FPF198 Y XQ806	18/06/2006	12/08/2006	Crías	Anidación	23	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4059	CM-A3	son de Cayo Arcas
Cm	H	14/11/2006	350	XQ828 Y XQ829	25/06/2006	15/08/2006	Crías	Anidación	41	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4060	CM-A3	(no traían identificación)
Cm	H	14/11/2006	351	XQ837 Y XQ838	01/07/2006	18/08/2006	Crías	Anidación	57	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4061	CM-A3	
Cm	H	14/11/2006	352	XQ826 Y XQ825	04/07/2006	25/08/2006	Crías	Anidación	71	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4062	CM-A47	
Cm	H	14/11/2006	353	XQ839 Y XQ841	05/07/2006	25/08/2006	Crías	Anidación	74	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4063	CM-A47	
Cm	H	14/11/2006	354	XQ842 Y FPF123	05/07/2006	28/08/2006	Crías	Anidación	75	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4064	CM-A47	
Cm	H	14/11/2006	355	XQ861 Y XQ862	13/07/2006	31/08/2006	Crías	Anidación	100	Cayo Arcas	Campeche	GM	15/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4065	CM-A3	
Cm	H	14/11/2006	356	XQ863 Y XQ864	13/07/2006	31/08/2006	Crías	Anidación	101	Cayo Arcas	Campeche	GM	21/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4066	CM-A3	
Cm	H	14/11/2006	357	XQ873	01/09/2006	03/09/2006	Crías	Anidación	105	Cayo Arcas	Campeche	GM	21/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4067	CM-A3	Muestras 12 y 13 repetidas
Cm	H	14/11/2006	358	XQ873	01/09/2006	03/09/2006	Crías	Anidación	105	Cayo Arcas	Campeche	GM	21/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4068	CM-A47	
Cm	H	14/11/2006	359	XQ936 Y XQ938	17/08/2006	08/10/2006	Crías	Anidación	204	Cayo Arcas	Campeche	GM	21/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4069	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	292A		14/07/2006	08/09/2006	Crías	Anidación	1	Chenkán	Campeche	GM	21/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4052	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	292B		14/07/2006	08/09/2006	Crías	Anidación	1	Chenkán	Campeche	GM	21/11/2006					Muestra repetida
Cm	M	14/11/2006	292C		14/07/2006	08/09/2006	Crías	Anidación	1	Chenkán	Campeche	GM	21/11/2006					Muestra repetida
Cm	M	14/11/2006	293A		23/07/2006	17/09/2006	Crías	Anidación	2	Chenkán	Campeche	GM	21/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4053	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	293B		23/07/2006	17/09/2006	Crías	Anidación	2	Chenkán	Campeche	GM	21/11/2006					Muestra repetida
Cm	M	14/11/2006	294		04/08/2006	28/08/2006	Crías	Anidación	3	Chenkán	Campeche	GM	21/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4054	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	295		09/08/2006	28/08/2006	Crías	Anidación	5	Chenkán	Campeche	GM	21/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4055	CM-A18	
Cm	M/C	22/11/2005	76	FPF004	16/06/2005	06/08/2005	Crías	Anidación	26	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LCM15382	4185	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	77		19/06/2005	08/08/2005	Crías	Anidación	CAJA 1	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LCM15382	4186	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	78	XJ740	14/06/2005	07/08/2005	Crías	Anidación	19	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	02/03/2007	H950/LTEi9	3563	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	78	XJ740	14/06/2005	07/08/2005	Crías	Anidación	19	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3688		
Cm	M/C	22/11/2005	79	XJ739	14/06/2005	27/08/2005	Crías	Anidación	18	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	02/03/2007	H950/LTEi9	3564	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	79	XJ739	14/06/2005	27/08/2005	Crías	Anidación	18	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	09/10/2007	H950/LTEi9	3689		
Cm	M/C	22/11/2005	80		29/06/2005	20/08/2005	Crías	Anidación	58	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	02/03/2007	H950/LTEi9	3565	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	80		29/06/2005	20/08/2005	Crías	Anidación	58	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	09/10/2007	H950/LTEi9	3690		Muestra repetida
Cm	M/C	22/11/2005	81		29/06/2005	28/08/2005	Crías	Anidación	54	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	02/03/2007	H950/LTEi9	3566	CM-A18	
Cm	M/C	22/11/2005	82		29/06/2005	28/08/2005	Crías	Anidación	55	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	02/03/2007	H950/LTEi9	3518	CM-A3	
Cm	M/H	22/11/2005	83		13/07/2005	29/08/2005	Crías	Anidación	90	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4187	CM-A3	
Cm	M/H	22/11/2005	84		13/07/2005	29/08/2005	Crías	Anidación	89	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	02/03/2007	H950/LTEi9	3567	CM-A3	
Cm	M/H	22/11/2005	84		13/07/2005	29/08/2005	Crías	Anidación	89	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	09/10/2007	H950/LTEi9	3691		Muestra repetida
Cm	M/C	22/11/2005	85		12/07/2005	29/08/2005	Crías	Anidación	84	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	02/03/2007	H950/LTEi9	3568	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	85		12/07/2005	29/08/2005	Crías	Anidación	84	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	09/10/2007	H950/LTEi9	3692		Muestra repetida
Cm	M/C	22/11/2005	86		12/07/2005	31/08/2005	Crías	Anidación	83	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3569	CM-A3	
Cm	M/H	22/11/2005	87		12/07/2005	02/09/2005	Crías	Anidación	88	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3570	CM-A3	
Cm	M/C/H	22/11/2005	88		16/07/2005	06/09/2005	Crías	Anidación	96	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3571	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	89		16/07/2005	06/09/2005	Crías	Anidación	97	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4188	CM-A3	
Cm	M/C/H	22/11/2005	90		23/07/2005	08/09/2005	Crías	Anidación	110	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4189	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	91	BS908	23/07/2005	09/09/2005	Crías	Anidación	98	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4190	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	92		23/07/2005	10/09/2005	Crías	Anidación	109	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3572	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	92		23/07/2005	10/09/2005	Crías	Anidación	109	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	09/10/2006	H950/LTEi9			Muestra repetida
Cm	M/C	22/11/2005	93	XJ804	24/07/2005	10/09/2005	Crías	Anidación	112	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3573	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	94		30/07/2005	11/09/2005	Crías	Anidación	123	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3574	CM-A18	
Cm	M/C	22/11/2005	95		23/07/2005	11/09/2005	Crías	Anidación	99	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4191	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	96	XJ811	28/07/2005	11/09/2005	Crías	Anidación	120	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3575	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	97		23/07/2005	12/09/2005	Crías	Anidación	100	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3576	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	98		31/07/2005	12/09/2005	Crías	Anidación	128	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4192	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	99		30/07/2005	12/09/2005	Crías	Anidación	125	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3577	CM-A3	
Cm	M/H	22/11/2005	100		03/08/2005	19/09/2005	Crías	Anidación	139	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3578	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	101	XJ713	23/07/2005	19/09/2005	Crías	Anidación	104	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3579	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	101	XJ713	23/07/2005	19/09/2005	Crías	Anidación	104	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3693		Muestra repetida
Cm	M/C	22/11/2005	102		23/07/2005	19/09/2005	Crías	Anidación	105	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4193	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	103		23/07/2005	19/09/2005	Crías	Anidación	104	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3580	CM-A3	
Cm	M/H	22/11/2005	104		02/08/2005	24/09/2005	Crías	Anidación	131	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	07/03/2007	H950/LTEi9	3581	CM-A3	
Cm	M/C/H	22/11/2005	105		02/08/2005	24/09/2005	Crías	Anidación	132	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4194	CM-A3	
Cm	M/C/H	22/11/2005	106		04/08/2005	24/09/2005	Crías	Anidación	148	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3583		No se pudo identificar

Prof.	Tejido	Fecha de ingreso	Núm. cat	Núm. de marca	Fecha desove	Fecha colecta	Clave sexo	Hábitat	Núm. nido	Playa	Estado	Región	Fecha extracción	Fecha PCR	Oligos	Núm. PCR	Haplotipo	Observaciones
Cm	M/C/H	22/11/2005	106		04/08/2005	24/09/2005	Crías	Anidación	148	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	28/08/2006	H950/LTEi9	3678		
Cm	M/C/H	22/11/2005	106		04/08/2005	24/09/2005	Crías	Anidación	148	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	09/10/2007	H950/LTEi9	3694		
Cm	M/C	22/11/2005	107		08/08/2005	25/09/2005	Crías	Anidación	159	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3584		No se pudo identificar
Cm	M/C	22/11/2005	107		08/08/2005	25/09/2005	Crías	Anidación	159	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	28/08/2006	H950/LTEi9	3679		
Cm	M/C	22/11/2005	107		08/08/2005	25/09/2005	Crías	Anidación	159	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3695		
Cm	M/H	22/11/2005	108		03/09/2005	25/09/2005	Crías	Anidación	226	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3585		No se pudo identificar
Cm	M/H	22/11/2005	108		03/09/2005	25/09/2005	Crías	Anidación	226	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	28/08/2006	H950/LTEi9	3680	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	109	XJ817	04/08/2005	28/09/2005	Crías	Anidación	143	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3586	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	109	XJ817	04/08/2005	28/09/2005	Crías	Anidación	143	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	28/08/2006	H950/LTEi9	3681		Muestra repetida
Cm	M/C	22/11/2005	109	XJ817	04/08/2005	28/09/2005	Crías	Anidación	143	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4195		Muestra repetida
Cm	M/C	22/11/2005	110	FS431	11/08/2005	28/09/2005	Crías	Anidación	171	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4196	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	111		11/08/2005	28/09/2005	Crías	Anidación	172	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4197	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	112	BS908	11/08/2005	28/09/2005	Crías	Anidación	169	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3587		Muestra repetida
Cm	M/C	22/11/2005	112	BS908	11/08/2005	28/09/2005	Crías	Anidación	169	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	28/08/2006	H950/LTEi9	3682	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	113	XJ816	14/08/2005	28/09/2005	Crías	Anidación	183	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3588		Muestra repetida
Cm	M/C	22/11/2005	113	XJ816	14/08/2005	28/09/2005	Crías	Anidación	183	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	30/08/2006	H950/LTEi9	3683	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	114		14/08/2005	29/09/2005	Crías	Anidación	186	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4198	CM-A3	
Cm	M/C	22/11/2005	115		14/08/2005	29/09/2005	Crías	Anidación	187	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3589		Repetida/en alcohol
Cm	M/C	22/11/2005	115		14/08/2005	29/09/2005	Crías	Anidación	187	Isla Aguada	Campeche	GM	07/11/2005	30/08/2006	H950/LTEi9	3684	CM-A3	Muestras en alcohol
Cm	M/C/H	22/11/2005	116	XJ730	10/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	163	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3590		Repetida/en alcohol
Cm	M/C/H	22/11/2005	116	XJ730	10/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	163	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	30/08/2006	H950/LTEi9	3685	CM-A3	Muestras en alcohol
Cm	M/C/H	22/11/2005	117		13/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	181	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	05/07/2007	H950/LTEi9	4199	CM-A3	Muestras en alcohol
Cm	M/C/H	22/11/2005	118	BS995	15/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	189	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3591		Repetida/en alcohol
Cm	M/C/H	22/11/2005	118	BS995	15/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	189	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	30/08/2006	H950/LTEi9	3686	CM-A18	Muestras en alcohol
Cm	M/C/H	22/11/2005	119		20/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	203	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3592		Repetida/en alcohol
Cm	M/C/H	22/11/2005	119		20/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	203	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	30/08/2006	H950/LTEi9	3687	CM-A3	Muestras en alcohol
Cm	M/C	22/11/2005	120	XJ763	14/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	184	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3593	CM-A3	Muestras en alcohol
Cm	M/H	22/11/2005	121	XJ772*.XJ829	14/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	185	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3594	CM-A3	Muestras en alcohol
Cm	M/H	22/11/2005	122	XJ832	15/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	190	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3595	CM-A3	Muestras colocadas en alcohol/*muestra sustituida por la otra
Cm	M/H	22/11/2005	122	XJ832	15/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	190	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3696		Muestra repetida
Cm	M/H	22/11/2005	123		15/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	191	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3596	CM-A3	Muestras en alcohol
Cm	M/H	22/11/2005	123		15/08/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	191	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3697		Muestra repetida
Cm	M/H	22/11/2005	124		25/08/2005	08/09/2005	Crías	Anidación	210	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3597	CM-A3	Muestras en alcohol
Cm	M/H	22/11/2005	124		25/08/2005	08/09/2005	Crías	Anidación	210	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3698		Muestra repetida
Cm	M/H	22/11/2005	125	XJ823	11/08/2005	08/09/2005	Crías	Anidación	167	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	08/03/2007	H950/LTEi9	3598	CM-A3	Muestras en alcohol
Cm	M/H	22/11/2005	125	XJ823	11/08/2005	08/09/2005	Crías	Anidación	167	Isla Aguada	Campeche	GM	08/11/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3699		Muestra repetida
Cm	A	14/11/2006	296	XQ671	12/07/2006	12/07/2006	Crías	Anidación	443	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4128	CM-A18	
Cm	A	14/11/2006	297	FPF076	12/07/2006	12/07/2006	Crías	Anidación	338	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4129	CM-A18	
Cm	A	14/11/2006	298	FPF027	13/07/2006	13/07/2006	Crías	Anidación	444	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4130	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	299	XQ654	13/07/2006	13/07/2006	Crías	Anidación	445	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4131	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	300	XQ605	27/05/2006	2006	Crías	Anidación	301	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4132	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	301	FPF053	05/06/2006	25/07/2006	Crías	Anidación	303	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4133	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	302	FS420	27/05/2006	15/08/2006	Crías	Anidación	1	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4134	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	303	FK688	28/06/2006	18/08/2006	Crías	Anidación	425	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4135	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	304	XQ773	28/06/2006	18/08/2006	Crías	Anidación	427	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4136	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	305	FS754	28/06/2006	19/08/2006	Crías	Anidación	426	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4137	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	306	XQ658	30/06/2006	21/08/2006	Crías	Anidación	318	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4138	CM-A18	
Cm	C	14/11/2006	307	XQ669	07/07/2006	26/08/2006	Crías	Anidación	442	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4139	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	308	XQ663	07/07/2006	26/08/2006	Crías	Anidación	441	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4140	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	309	FPF075	10/07/2006	29/08/2006	Crías	Anidación	331	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	29/06/2007	H950/LCM15382	4183	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	310	FPF027	13/07/2006	31/08/2006	Crías	Anidación	444	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4141	CM-A18	
Cm	C	14/11/2006	311	TTT903	16/07/2006	07/09/2006	Crías	Anidación	454	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4142	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	312	TTT904	17/07/2006	06/09/2006	Crías	Anidación	455	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4143	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	313	TTT907	19/07/2006	06/09/2006	Crías	Anidación	461	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4144	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	314	XQ774	19/07/2006	06/09/2006	Crías	Anidación	462	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4145	CM-A3	Muestras 19 y 23 son de
Cm	C	14/11/2006	315	FPF027	24/07/2006	09/09/2006	Crías	Anidación	349	Isla Aguada	Campeche	GM	14/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4146	CM-A18	la misma hembra que
Cm	C	14/11/2006	316	XQ767	27/07/2006	11/09/2006	Crías	Anidación	482	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4147	CM-A3	salió a desovar con
Cm	C	14/11/2006	317	TTT918	28/07/2006	14/09/2006	Crías	Anidación	15	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4148	CM-A3	9 días de dif. Es distinto
Cm	C	14/11/2006	318	XQ774	28/07/2006	17/09/2006	Crías	Anidación	487	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4149	CM-A3	el nido.
Cm	C	14/11/2006	319	TTT922	29/07/2006	15/09/2006	Crías	Anidación	19	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4150	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	320	TTT924	30/07/2006	15/09/2006	Crías	Anidación	20	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4151	CM-A3	

Prof.	Tejido	Fecha de ingreso	Núm. cat	Núm. de marca	Fecha desove	Fecha colecta	Clave sexo	Hábitat	Núm. nido	Playa	Estado	Región	Fecha extracción	Fecha PCR	Oligos	Núm. PCR	Haplotipo	Observaciones
Cm	C	14/11/2006	321	XQ764	02/08/2006	18/09/2006	Crías	Anidación	494	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4152	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	322	FPF013	01/08/2006	20/09/2006	Crías	Anidación	355	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	26/06/2007	H950/LCM15382	4153	CM-A18	
Cm	C	14/11/2006	323	FPF074	02/08/2006	20/09/2006	Crías	Anidación	356	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4161	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	324	TTT926	03/08/2006	20/09/2006	Crías	Anidación	496	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4162	CM-A18	
Cm	C	14/11/2006	325	TTT925	03/08/2006	20/09/2006	Crías	Anidación	22	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4163	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	326	FS466	04/08/2006	24/09/2006	Crías	Anidación	24	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4164	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	327	TTT928	09/08/2006	29/09/2006	Crías	Anidación	25	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4165	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	328	TTT914	14/08/2006	01/10/2006	Crías	Anidación	517	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4166	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	329	FPF063	16/08/2006	03/10/2006	Crías	Anidación	520	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4167	CM-A18	
Cm	C	14/11/2006	330	-	28/08/2006	14/10/2006	Crías	Anidación	5	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4168	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	331	-	-	2006	Crías	Anidación	-	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4169	CM-A3	Las muestras 36 y 50 existen
Cm	C	14/11/2006	332	TTT948	-	2006	Crías	Anidación	403	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	29/06/2007	H950/LCM15382	4184	CM-A3	físicamente, pero en las hojas que recibimos
Cm	C	14/11/2006	333	TTT949	-	2006	Crías	Anidación	37	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4170	CM-A3	no hay registro de ninguna de
Cm	C	14/11/2006	334	-	-	2006	Crías	Anidación	541	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4171	CM-A3	las dos.
Cm	C	14/11/2006	335	-	-	2006	Crías	Anidación	409	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4172	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	336	-	-	2006	Crías	Anidación	542	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4173	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	337	-	-	2006	Crías	Anidación	407	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4174	CM-A18	
Cm	C	14/11/2006	338	-	06/09/2006	2006	Crías	Anidación	CA-1	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4175	CM-A18	
Cm	C	14/11/2006	339	-	-	2006	Crías	Anidación	CA-2	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4176	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	340	-	09/09/2006	2006	Crías	Anidación	CA-6	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4177	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	341	-	08/09/2006	2006	Crías	Anidación	CA-3	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4178	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	342	-	11/09/2006	2006	Crías	Anidación	CA-7	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4179	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	343	-	11/09/2006	2006	Crías	Anidación	CA-8	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4180	CM-A18	
Cm	C	14/11/2006	344	-	17/09/2006	2006	Crías	Anidación	CA-11	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4181	CM-A3	
Cm	C	14/11/2006	345	-	-	2006	Crías	Anidación	-	Isla Aguada	Campeche	GM	15/11/2006	27/06/2007	H950/LCM15382	4182	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	285	F5 584	14/06/2006	10/08/2006	Crías	Anidación	2	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4001	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	286	-	23/07/2006	21/08/2006	Crías	Anidación	48	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4002	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	287	-	09/07/2006	01/09/2006	Crías	Anidación	33	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4003	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	288	XQ 666	26/07/2006	01/09/2006	Crías	Anidación	57	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4004	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	289	-	05/07/2006	04/09/2006	Crías	Anidación	27	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4005	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	290	-	12/08/2006	24/09/2006	Crías	Anidación	84	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4006	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	291	XQ 776	15/08/2006	24/09/2006	Crías	Anidación	86	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4007	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	360	-	-	2006	Crías	Anidación	-	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	-	-	-	-	No salió ADN
Cm	M	14/11/2006	361	-	-	2006	Crías	Anidación	-	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4008	CM-A3	
Cm	M	14/11/2006	362	-	-	2006	Crías	Anidación	-	Isla del Carmen	Campeche	GM	21/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4009	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	255	-	24/06/2006	27/08/2006	Crías	Anidación	135	La Escollera	Campeche	GM	21/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3979	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	256	-	27/06/2006	27/08/2006	Crías	Anidación	149	La Escollera	Campeche	GM	21-Nov-06	24/05/2007	H950/LCM15382	3980	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	257	-	28/06/2006	27/08/2006	Crías	Anidación	161	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3981	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	258	-	30/06/2006	28/06/2006	Crías	Anidación	173	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4045	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	259	-	01/07/2006	28/06/2006	Crías	Anidación	179	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4046	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	260	-	02/07/2006	28/06/2006	Crías	Anidación	185	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3982	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	261	-	04/07/2006	28/06/2006	Crías	Anidación	198	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3983	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	262	-	05/07/2006	28/06/2006	Crías	Anidación	203	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3984	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	263	-	12/07/2006	07/07/2006	Crías	Anidación	234	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3985	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	264	-	17/07/2006	07/07/2006	Crías	Anidación	250	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3986	CM-A18	
Cm	A	14/11/2006	265	-	17/07/2006	08/07/2006	Crías	Anidación	251	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	03/07/2007	H950/LCM15382	-	-	No amplificó
Cm	A	14/11/2006	266	-	18/07/2006	08/07/2006	Crías	Anidación	260	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4047	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	267	-	22/07/2006	08/07/2006	Crías	Anidación	252	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4048	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	268	-	22/07/2006	08/07/2006	Crías	Anidación	279	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3987	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	269	-	23/07/2006	09/07/2006	Crías	Anidación	282	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3988	CM-A18	
Cm	A	14/11/2006	270	-	25/07/2006	18/07/2006	Crías	Anidación	290	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3989	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	271	-	27/07/2006	19/07/2006	Crías	Anidación	296	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4049	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	272	-	27/07/2006	20/07/2006	Crías	Anidación	298	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4050	CM-A18	
Cm	A	14/11/2006	273	-	30/07/2006	20/07/2006	Crías	Anidación	307	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3990	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	274	-	31/07/2006	22/07/2006	Crías	Anidación	309	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3991	CM-A18	
Cm	A	14/11/2006	275	-	01/08/2006	22/07/2006	Crías	Anidación	315	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	24/05/2007	H950/LCM15382	3992	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	276	-	02/08/2006	25/07/2006	Crías	Anidación	319	La Escollera	Campeche	GM	23/11/2006	25/06/2007	H950/LCM15382	4051	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	277	-	03/08/2006	25/07/2006	Crías	Anidación	326	La Escollera	Campeche	GM	28/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	3993	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	278	-	03/08/2006	25/07/2006	Crías	Anidación	327	La Escollera	Campeche	GM	28/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	3994	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	279	-	04/08/2006	26/07/2006	Crías	Anidación	331	La Escollera	Campeche	GM	28/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	3995	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	280	-	06/08/2006	02/10/2006	Crías	Anidación	338	La Escollera	Campeche	GM	28/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	3996	CM-A3	

Prof.	Tejido	Fecha de ingreso	Núm. cat	Núm. de marca	Fecha desove	Fecha colecta	Clave sexo	Hábitat	Núm. nido	Playa	Estado	Región	Fecha extracción	Fecha PCR	Oligos	Núm. PCR	Haplotipo	Observaciones
Cm	A	14/11/2006	281		06/08/2006	02/10/2006	Crías	Anidación	340	La Escollera	Campeche	GM	28/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	3997	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	282		07/08/2006	02/10/2006	Crías	Anidación	347	La Escollera	Campeche	GM	28/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	3998	CM-A3	
Cm	A	14/11/2006	283		12/08/2006	05/10/2006	Crías	Anidación	356	La Escollera	Campeche	GM	28/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	3999	CM-A18	
Cm	A	14/11/2006	284		15/08/2006	05/10/2006	Crías	Anidación	365	La Escollera	Campeche	GM	28/11/2006	25/05/2007	H950/LCM15382	4000	CM-A18	
Cm		17/03/2006	183			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	07/05/2007	H950/LCM15382	3738	CM-A1	Playa 2 TORDO
Cm		17/03/2006	186			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3638	CM-A1	
Cm		17/03/2006	187			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	07/05/2007	H950/LCM15382	3739	CM-A1	
Cm		17/03/2006	188			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	07/05/2007	H950/LCM15382	3740	CM-A1	
Cm		17/03/2006	189			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3639	CM-A1	
Cm		17/03/2006	190			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3640	CM-A1	
Cm		17/03/2006	191			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	10/05/2007	H950/LCM15382	3795	CM-A1	
Cm		17/03/2006	192			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3730	CM-A1	
Cm		17/03/2006	193			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	07/05/2007	H950/LCM15382	3741	CM-A3	
Cm		17/03/2006	194			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3641	CM-A58	
Cm		17/03/2006	195			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3642	CM-A58	
Cm		17/03/2006	196			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3728	CM-A1	
Cm		17/03/2006	197			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3643	CM-A1	
Cm		17/03/2006	198			2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	23/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3644	CM-A1	
Cm		17/03/2006	174 A			22/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3736	CM-A1	
Cm		17/03/2006	174 B			22/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	175 A			24/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3630	CM-A1	
Cm		17/03/2006	175 B			24/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	176 A			23/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3631	CM-A1	
Cm		17/03/2006	176 B			23/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	177 A			27/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3632	CM-A3	
Cm		17/03/2006	177 B			27/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	178 A			29/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3633	CM-A1	
Cm		17/03/2006	178 B			29/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	179 A			25/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3729	CM-A1	
Cm		17/03/2006	179 B			25/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	180 A			25/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3634	CM-A1	
Cm		17/03/2006	180 B			25/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	181 A			20/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3737	CM-A3	
Cm		17/03/2006	181 B			20/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	182 A			02/09/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3635	CM-A3	
Cm		17/03/2006	182 B			02/09/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	184 A			02/09/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3636	CM-A3	
Cm		17/03/2006	184 B			02/09/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm		17/03/2006	185 A			29/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006	03/04/2006	H950/LTEi9	3637	CM-A3	
Cm		17/03/2006	185 B			29/08/2005	Crías	Anidación		Rancho Nuevo	Tamaulipas	GM	17/03/2006					Muestra repetida
Cm	M	13/10/2005	64		02/07/2005	26/08/2005	Crías	Anidación	140	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	16/08/2007	H950/LCM15382	4202	CM-A1	Corral. No salió ADN.
Cm	M	13/10/2005	65		02/07/2005	26/08/2005	Crías	Anidación	141	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	02/03/2006	H950/LTEi9	3553	CM-A3	Corral
Cm	M	13/10/2005	66		02/07/2005	26/08/2005	Crías	Anidación	142	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	02/03/2006	H950/LTEi9	3554	CM-A1	Corral
Cm	M	13/10/2005	67		07/07/2005	26/08/2005	Crías	Anidación	143	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	02/03/2006	H950/LTEi9	3555	CM-A1	Corral
Cm	M	13/10/2005	68		02/07/2005	26/08/2005	Crías	Anidación	144	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	02/03/2006	H950/LTEi9	3556	CM-A1	In situ
Cm	M	13/10/2005	69		02/07/2005	26/08/2005	Crías	Anidación	145	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	16/08/2007	H950/LCM15382	4203	CM-A3	In situ. No salió ADN.
Cm	M	13/10/2005	70		02/07/2005	26/08/2005	Crías	Anidación	146	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	04/03/2006	H950/LTEi9	3557	CM-A1	In situ
Cm	M	13/10/2005	71		15/07/2005	30/08/2005	Crías	Anidación	236	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	05/03/2006	H950/LTEi9	3558	CM-A1	In situ
Cm	M	13/10/2005	72		15/07/2005	30/08/2005	Crías	Anidación	237	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	06/03/2006	H950/LTEi9	3559	CM-A1	In situ
Cm	M	13/10/2005	73		16/07/2005	01/09/2005	Crías	Anidación	245	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	07/03/2006	H950/LTEi9	3560	CM-A1	In situ
Cm	M	13/10/2005	74			26/08/2005	Crías	Anidación	pendiente	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	08/03/2006	H950/LTEi9	3561	CM-A1	Corral
Cm	M	13/10/2005	75		16/08/2005	15/09/2005	Crías	Anidación	422	Chaparrales	Veracruz	GM	26/10/2005	09/03/2006	H950/LTEi9	3562	CM-A3	In situ
Cm	M/H	12/10/2005	27		05/06/2005	21/07/2005	Crías	Anidación	17	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	22/02/2006	H950/LTEi9	3519	CM-A1	
Cm	M/C	12/10/2005	28			21/07/2005	Crías	Anidación		Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	24/02/2006	H950/LTEi9	3521	CM-A1	
Cm	M/C	12/10/2005	29		07/06/2005	22/07/2005	Crías	Anidación	26	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	24/02/2006	H950/LTEi9	3522	CM-A1	
Cm	M/H	12/10/2005	30			22/07/2005	Crías	Anidación		Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	24/02/2006	H950/LTEi9	3523		Muestra repetida
Cm	M/H	12/10/2005	30			22/07/2005	Crías	Anidación		Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3700	CM-A1	
Cm	M/H	12/10/2005	33		07/06/2005	23/07/2005	Crías	Anidación	24	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	24/02/2006	H950/LTEi9	3526		Muestra repetida
Cm	M/H	12/10/2005	33		07/06/2005	23/07/2005	Crías	Anidación	24	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3701	CM-A1	
Cm	M/H	12/10/2005	34		06/06/2005	23/07/2005	Crías	Anidación	46	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	24/10/2006	H950/LTEi9	3527	CM-A1	
Cm	M/H	12/10/2005	35		04/07/2005	27/07/2005	Crías	Anidación	15	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	22/02/2006	H950/LTEi9	3520	CM-A3	

Prof.	Tejido	Fecha de ingreso	Núm. cat	Núm. de marca	Fecha desove	Fecha colecta	Clave sexo	Hábitat	Núm. nido	Playa	Estado	Región	Fecha extracción	Fecha PCR	Oligos	Núm. PCR	Haplotipo	Observaciones	
Cm	M	12/10/2005	36		03/07/2005	27/07/2005	Crías	Anidación	8	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	24/02/2006	H950/LTEi9	3528	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	42		04/06/2005	09/08/2005	Crías	Anidación	12	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	14/08/2007	16/08/2007	H950/LCM15382	4200	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	44		18/06/2005	09/08/2005	Crías	Anidación	84	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	14/08/2007	16/08/2007	H950/LCM15382	4201	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	46		06/06/2005	09/08/2005	Crías	Anidación	22	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	26/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3536	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	49		20/06/2005	10/08/2005	Crías	Anidación	136	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	26/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3539	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	50		19/06/2005	10/08/2005	Crías	Anidación	78	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	26/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3540	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	54		07/06/2005	14/08/2005	Crías	Anidación	23	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	26/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3544	CM-A1	Deforme	
Cm	M	05/09/2006	199		16/06/2006	07/08/2006	Crías	Anidación	46	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	26/04/2007	H950/LCM15382	3732	CM-A18		
Cm	M	05/09/2006	200		20/06/2006	07/08/2006	Crías	Anidación	70	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3862	CM-A1		
Cm	C	05/09/2006	201		12/06/2006	08/08/2006	Crías	Anidación	31	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	26/04/2007	H950/LCM15382	3733	CM-A1		
Cm	C	05/09/2006	202		22/06/2006	08/08/2006	Crías	Anidación	76	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3863	CM-A1		
Cm	C	05/09/2006	203		22/06/2006	08/08/2006	Crías	Anidación	83	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	26/04/2007	H950/LCM15382	3734	CM-A1		
Cm	H	05/09/2006	204		19/06/2006	09/08/2006	Crías	Anidación	62	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006						No salió ADN
Cm	M	05/09/2006	205		26/06/2006	11/08/2006	Crías	Anidación	100	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3864	CM-A1		
Cm	H	05/09/2006	206		18/06/2006	12/08/2006	Crías	Anidación	59	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3865	CM-A1		
Cm	C	05/09/2006	207		23/06/2006	12/08/2006	Crías	Anidación	83a	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3873	CM-A1		
Cm	C	05/09/2006	208		28/06/2006	15/08/2006	Crías	Anidación	112	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3874	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	209		01/07/2006	15/08/2006	Crías	Anidación	129	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3875	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	210		28/06/2006	16/08/2006	Crías	Anidación	110	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006						Emergió 16/08/06. No salió ADN
Cm	M	05/09/2006	211		29/06/2006	17/08/2006	Crías	Anidación	119	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006						No salió ADN
Cm	M/C	05/09/2006	212		29/06/2006	17/08/2006	Crías	Anidación	118	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3866	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	213		01/07/2006	17/08/2006	Crías	Anidación	134	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3867	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	214		01/07/2006	17/08/2006	Crías	Anidación	579	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3876	CM-A1	Nido localizado al nacer	
Cm	M	05/09/2006	215		30/06/2006	18/08/2006	Crías	Anidación	123	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3868	CM-A18	depredado	
Cm	M	05/09/2006	216		24/06/2006	18/08/2006	Crías	Anidación	91	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3877	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	217		28/06/2006	18/08/2006	Crías	Anidación	111	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3869	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	218		01/07/2006	18/08/2006	Crías	Anidación	133	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	11/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3878	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	219		30/06/2006	27/08/2006	Crías	Anidación	124	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3870	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	251		23/07/2006	10/09/2006	Crías	Anidación	311	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3871	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	252		28/07/2006	11/09/2006	Crías	Anidación	692	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	18/05/2007	H950/LCM15382	3872	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	253		25/07/2006	13/09/2006	Crías	Anidación	694	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3934	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	254		22/07/2006	14/09/2006	Crías	Anidación	318	Coyotes/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3935	CM-A1		
Cm	M/H	12/10/2005	31		08/06/2005	22/07/2005	Crías	Anidación	6	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	24/02/2006	H950/LTEi9	3524	CM-A1		
Cm	M/H	12/10/2005	32		09/06/2005	22/07/2005	Crías	Anidación	8	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	24/02/2006	H950/LTEi9	3525	CM-A3		
Cm	M/C	13/10/2005	37		16/06/2005	02/08/2005	Crías	Anidación	19	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	24/02/2006	H950/LTEi9	3529	CM-A1		
Cm	M/C	13/10/2005	37		16/06/2005	02/08/2005	Crías	Anidación	19	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	09/10/2006	H950/LTEi9	3702		Muestra repetida	
Cm	M/H	13/10/2005	38		20/06/2005	08/08/2005	Crías	Anidación	33	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	24/02/2006	H950/LTEi9	3530	CM-A3		
Cm	M/H	13/10/2005	39		18/06/2005	08/08/2005	Crías	Anidación	27	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3531	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	40		24/06/2005	09/08/2005	Crías	Anidación	48	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3532	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	41		24/06/2005	09/08/2005	Crías	Anidación	49	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3533	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	43		19/06/2005	09/08/2005	Crías	Anidación	29	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3534	CM-A1		
Cm	M/H/C	13/10/2005	45		25/06/2005	09/08/2005	Crías	Anidación	51	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3535	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	47		26/06/2005	10/08/2005	Crías	Anidación	58	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	17/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3537	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	48		23/06/2005	10/08/2005	Crías	Anidación	43	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3538	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	51		23/06/2005	11/08/2005	Crías	Anidación	43	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	26/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3541	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	52		23/06/2005	11/08/2005	Crías	Anidación	42	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3542	CM-A3		
Cm	M/H	13/10/2005	53		25/06/2005	11/08/2005	Crías	Anidación	52	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	26/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3543	CM-A1	Deforme	
Cm	M/H	13/10/2005	55		26/06/2005	14/08/2005	Crías	Anidación	54	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3545	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	56		27/06/2005	14/08/2005	Crías	Anidación	63	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9			No amplificó	
Cm	M/H	13/10/2005	57		23/06/2005	14/08/2005	Crías	Anidación	44	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3546	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	58		23/06/2005	15/08/2005	Crías	Anidación	45	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3547	CM-A3	Gemelas	
Cm	M/H	13/10/2005	59		29/06/2005	16/08/2005	Crías	Anidación	82	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3548	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	60		26/06/2005	15/08/2005	Crías	Anidación	55	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	01/03/2006	H950/LTEi9	3549	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	61		29/06/2005	16/08/2005	Crías	Anidación		Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	02/03/2006	H950/LTEi9	3550	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	62		29/06/2005	16/08/2005	Crías	Anidación		Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	02/03/2006	H950/LTEi9	3551	CM-A1		
Cm	M/H	13/10/2005	63		29/06/2005	16/08/2005	Crías	Anidación		Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	25/10/2005	02/03/2006	H950/LTEi9	3552	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	220		18/06/2006	07/08/2006	Crías	Anidación	14	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3879	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	221		16/06/2006	07/08/2006	Crías	Anidación	5	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3880	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	222		18/06/2006	07/08/2006	Crías	Anidación	13	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3881	CM-A1		
Cm	C	05/09/2006	223		23/06/2006	08/08/2006	Crías	Anidación	19	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3882	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	224		23/06/2006	08/08/2006	Crías	Anidación	20	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3883	CM-A1		

Prof.	Tejido	Fecha de ingreso	Núm. cat	Núm. de marca	Fecha desove	Fecha colecta	Clave sexo	Hábitat	Núm. nido	Playa	Estado	Región	Fecha extracción	Fecha PCR	Oligos	Núm. PCR	Haplotipo	Observaciones	
Cm	M	05/09/2006	225		18/06/2006	09/08/2006	Crías	Anidación	15	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3884	CM-A1		
Cm	C	05/09/2006	226		16/06/2006	10/08/2006	Crías	Anidación	9	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3885	CM-A1		
Cm	M	05/09/2006	227		30/06/2006	16/08/2006	Crías	Anidación	32	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006						Emergio 16/08/06 No salió ADN
Cm	M	05/09/2006	228		27/06/2006	17/08/2006	Crías	Anidación	24	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3886	CM-A1	Caja unicef 122	
Cm	M	05/09/2006	229		28/06/2006	17/08/2006	Crías	Anidación	26	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3887	CM-A1	Incubacion artificial	
Cm	M	05/09/2006	230		01/07/2006	25/08/2006	Crías	Anidación	36	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3888	CM-A3	Incubacion artificial	
Cm	M	05/09/2006	231		01/07/2006	25/08/2006	Crías	Anidación	35	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3889	CM-A1	Incubacion artificial	
Cm	M	05/09/2006	232		30/06/2006	31/08/2006	Crías	Anidación	34	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	12/09/2006						Huevo no eclosionado No salió ADN
Cm	M	03/10/2006	233		19/07/2006	09/07/2006	Crías	Anidación	76	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3890	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	234		22/07/2006	10/09/2006	Crías	Anidación	90	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3891	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	235		21/07/2006	10/09/2006	Crías	Anidación	83	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	22/05/2007	H950/LCM15382	3892	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	236		23/07/2006	10/09/2006	Crías	Anidación	94	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3919	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	237		20/07/2006	11/09/2006	Crías	Anidación	78	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3920	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	238		29/07/2006	12/09/2006	Crías	Anidación	105	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3921	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	239		29/07/2006	12/09/2006	Crías	Anidación	106	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3922	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	240		27/07/2006	12/09/2006	Crías	Anidación	103	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3923	CM-A3		
Cm	C	03/10/2006	241		24/07/2006	12/09/2006	Crías	Anidación	96	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3924	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	242		20/07/2006	12/09/2006	Crías	Anidación	81	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3925	CM-A3		
Cm	M	03/10/2006	243		25/07/2006	13/09/2006	Crías	Anidación	98	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3926	CM-A1		
Cm	C	03/10/2006	244		28/07/2006	01/09/2006	Crías	Anidación	186	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3927	CM-A3		
Cm	M	03/10/2006	245		03/08/2006	14/09/2006	Crías	Anidación	123	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3928	CM-A1		
Cm	M/C	03/10/2006	246		03/08/2006	18/09/2006	Crías	Anidación	117	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3929	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	247		13/08/2006	18/09/2006	Crías	Anidación	149	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3930	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	248		01/08/2006	20/09/2006	Crías	Anidación	113	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3931	CM-A1		
Cm	M/C	03/10/2006	249		01/08/2006	20/09/2006	Crías	Anidación	112	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3932	CM-A1		
Cm	M	03/10/2006	250		01/08/2006	20/09/2006	Crías	Anidación	111	Llano/Lechuguillas	Veracruz	GM	03/10/2006	23/05/2007	H950/LCM15382	3933	CM-A3		
Cm	H	21/12/2006	412		16/10/2006		ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	11/05/2007	H950/LCM15382	3802	CM-A3	Cría	
Cm	H	21/12/2006	413		17/10/2006		ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	11/05/2007	H950/LCM15382	3803	CM-A1	Cría	
Cm	H	21/12/2006	414		18/10/2006		ND	Anidación	87	Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	11/05/2007	H950/LCM15382	3804	CM-A1	Cría	
Cm	H	21/12/2006	415		18/10/2006		ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	11/05/2007	H950/LCM15382	3805	CM-A27	Cría	
Cm	H	21/12/2006	416		22/09/2006	18/10/2006	ND	Anidación	42	Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	11/05/2007	H950/LCM15382	3806	CM-A3	Cría	
Cm	H	21/12/2006	417			19/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3825	CM-A27	Cría(Desterrada)	
Cm	H	21/12/2006	418			19/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3826	CM-A3	Cría(Desterrada)	
Cm	H	21/12/2006	419			19/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3827	CM-A3	Cría(Desterrada)	
Cm	H	21/12/2006	420			19/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3828	CM-A27	Cría(Desterrada)	
Cm	H	21/12/2006	421			19/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3829	CM-A3	Cría(Desterrada)	
Cm	H	21/12/2006	422			19/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3830	CM-A3	Cría(Desterrada)	
Cm	H	21/12/2006	423			20/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3831	CM-A5	Cría	
Cm	H	21/12/2006	424			20/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3832	CM-A5	Cría	
Cm	H	21/12/2006	425			20/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3833	CM-A1	Cría	
Cm	H	21/12/2006	426			20/10/2006	ND	Anidación	64	Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3834	CM-A5	Cría	
Cm	H	21/12/2006	427			21/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3835	CM-A3	Cría (Isla Blanca)	
Cm	H	21/12/2006	428			21/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	17/05/2007	H950/LCM15382	3858	CM-A27	Cría (Isla Blanca)	
Cm	H	21/12/2006	429			21/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3836	CM-A3	Cría (Isla Blanca)	
Cm	H	21/12/2006	430			21/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3837	CM-A3	Cría (Isla Blanca)	
Cm	H	21/12/2006	431			21/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3838	CM-A3	Cría (Isla Blanca)	
Cm	H	21/12/2006	432			23/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3839	CM-A3	Cría (Isla Chica)	
Cm	H	21/12/2006	433			25/10/2006	ND	Anidación		Alacranes	Yucatan	GM	17/01/2007	14/05/2007	H950/LCM15382	3840	CM-A27	Cría(Desterrada)	
Cm	M	24/11/2005	160		27/06/2005	29/08/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005	24/03/2006	H950/LTEi9	3599	CM-A3		
Cm	M	24/11/2005	161		28/06/2005	29/08/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005	24/03/2006	H950/LTEi9	3600	CM-A3		
Cm	M	24/11/2005	162		28/06/2005	29/08/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005	24/03/2006	H950/LTEi9	3629	CM-A18.1		
Cm	M	24/11/2005	163		27/06/2005	29/08/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005						No salió ADN
Cm	M	24/11/2005	164		28/06/2005	29/08/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005	24/03/2006	H950/LTEi9	3601			
Cm	M	24/11/2005	165		27/06/2005	29/08/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005	04/05/2007	H950/LCM15382	3772	CM-A3		
Cm	M	24/11/2005	166		11/07/2005	09/09/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005	24/03/2006	H950/LTEi9				
Cm	M	24/11/2005	167		11/07/2005	11/09/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005						No salió ADN
Cm	M	24/11/2005	168		08/07/2005	12/09/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005						No salió ADN
Cm	M	24/11/2005	169		03/08/2005	23/09/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005	24/03/2006	H950/LTEi9	3602	CM-A3		
Cm	M	24/11/2005	170		03/08/2005	23/09/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005						No salió ADN
Cm	M	24/11/2005	171		03/08/2005	25/09/2005	Crías	Anidación		El Cuyo	Yucatan	GM	06/12/2005						No salió ADN

