



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**VARIABILIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DEL
MURCIÉLAGO ZAPOTERO *Artibeus jamaicensis* EN
TRES TIPOS DE VEGETACIÓN DE LA ISLA
COZUMEL.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

ARTURO MENDOZA MARTÍNEZ



DIRECTORA DE TESIS:

**DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ
DOMÍNGUEZ**

2011



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.

1. Datos del alumno Apellido paterno Apellido materno Nombre Teléfono Universidad Nacional Autónoma de México Facultad Carrera Número de cuenta	1. Datos del alumno Mendoza Martínez Arturo 56 73 70 74 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 302874062
2. Datos del tutor Grado Nombres Apellido paterno Apellido materno	2. Datos del tutor Dra. Ella Gloria Vázquez Domínguez
3. Datos del sinodal 1 Grado Nombres Apellido paterno Apellido materno	3. Datos del sinodal 1 Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau
4. Datos del sinodal 2 Grado Nombres Apellido paterno Apellido materno	4. Datos del sinodal 2 Dra. Livia Socorro León Paniagua
5. Datos del sinodal 3 Grado Nombre Apellido paterno Apellido materno	5. Datos del sinodal 3 Dr. Jorge Ortega Reyes
6. Datos del sinodal 4 Grado Nombres Apellido paterno Apellido materno	6. Datos del sinodal 4 Dra. América Nitxin Castañeda Sortibrán
7. Datos del trabajo escrito Título Número de páginas Año	7. Datos del trabajo escrito Variabilidad y estructura genética del murciélago zapotero <i>Artibeus jamaicensis</i> en tres tipos de vegetación de la Isla Cozumel. 68 pp 2011

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Creo que la gratitud es una de las virtudes que permiten atraer a nuestra vida todos los milagros y logros que tanto ansiamos. Por lo tanto, debido no sólo al valor espiritual y personal que trae la práctica de la gratitud, sino también a que a una gran cantidad de personas les debo la culminación de esta tesis en muchos sentidos, es que mencionaré en diferentes rubros a todas las personas a las que les manifiesto mi más sincera y honesta gratitud.

Esta tesis cambió tremenda y drásticamente mi vida. Puede decirse que es, hasta ahora, una de las creaciones más grandes que he logrado hacer. Y a partir de los ratos más horribles y aterradores de desesperación y angustia, asumí el riesgo de llegar hasta el final y hacer realidad este gran trabajo. Es por esto que pido disculpas si al lector se le hace esto una simple presunción o una muestra de soberbia o exageración.

Hay algo muy importante en lo que deseo hacer hincapié: el orden en el que aparecen las personas a las que les ofrezco mis agradecimientos no implica un grado de importancia o una jerarquía (las primeras personas mencionadas no son a fuerza las más importantes, más bien, todas las personas e instituciones aquí mencionadas son y han sido igual de importantes en toda la historia de esta tesis, y, por supuesto, en mi vida). También deseo hacer énfasis en el hecho de que he de desconfiar de mi buena memoria ante el riesgo que conlleva omitir algún agradecimiento a alguien. Dispuesto a correr ese riesgo, ofrezco mi más sincera disculpa a quienes accidentalmente no hayan sido mencionados en esta lista, y apelo a sus corazones, porque ellos saben que aun cuando no hayan sido mencionados aquí por circunstancias accidentales, ellos también fueron elementos valiosos para mí y para mi tesis, por lo que a los no mencionados también les ofrezco mi más sincero agradecimiento.

En primer término, agradezco a Dios Nuestro Señor, Nuestro Único Padre, Creador de todo lo que nos rodea, de todo lo que me hace ser yo mismo. A Ti, gracias por acompañarme, gracias por llenar todo mi ser de coraje, seguridad, valores, amor y voluntad para emprender todas las proezas que logré hacer realidad para formar esta tesis. A Ti, gracias por predisponer las circunstancias a mi favor, gracias por salvar y proteger mi vida en todas aquellas ocasiones en que corrí riesgos; a Ti, gracias por crear todas las cosas maravillosas de la Naturaleza y cuyo conocimiento más profundo nos esforzamos por obtener. Gracias por proporcionarnos de la herramienta que llamamos ciencia, para descubrir los más intrincados secretos de Tu obra: el Universo.

Ahora sí, cedo el espacio a las personas e instituciones terrenales:

Primer rubro: El sector académico. En este sector expreso mi gratitud a todos los entes académicos que hicieron realidad este proyecto, por aportar los elementos académicos, tecnológicos, financieros y logísticos para la realización de esta tesis.

Agradezco a la Dra. Ella Vázquez Domínguez. Muchas gracias por escucharme, por recibirme cordial y atentamente desde el primer día que nos vimos, por confiar en mí desde el inicio y gracias por tu infinita paciencia. Gracias por enseñarme tantas cosas valiosas del arriesgado y emocionante negocio de la ciencia, porque con tu ejemplo, tu trabajo y tus obras me aportaste un sinnúmero de enseñanzas.

Gracias al Dr. Alfredo Cuarón Orozco, líder del maravilloso proyecto Cozumel de CONACYT; gracias por tu amabilidad, tu apertura a aceptar un proyecto de genética en murciélagos, tu ejemplo, y gracias por tu confianza depositada hacia mí.

Gracias al proyecto de CONACYT “Ecología y manejo para la conservación de una biota endémica insular críticamente amenazada (SEMARNAT -2002-CO1-0571)” por el financiamiento otorgado a ese trabajo.

Gracias a la M. en C. Lorena Orozco Lugo: por enseñarme la importancia del rigor, la disciplina, el orden y muchas otras cosas que deben cubrirse al estar en campo. En especial, gracias a tus alumnas, Paty y Ariana, quienes me enseñaron todas las nociones básicas del manejo de murciélagos en campo.

Muchas gracias a todos mis sinodales, quienes, desinteresadamente, aceptaron aportar sus comentarios, correcciones y sugerencias a este trabajo de tesis: Dra. Livia Socorro León Paniagua, Dra. América Nitxin Castañeda Sortibrán, Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau y Dr. Jorge Ortega Reyes. Un agradecimiento especial ofrezco al Dr. Piñero, por aceptarme en el Taller de Genética de poblaciones, a pesar de mi confusión académica que tuve cuando no sabía sobre qué hacer mi tesis. Gracias por su noble trato hacia mí, por su interés en mi bienestar y en que yo aprendiera las nociones intrincadas de la Genética de poblaciones, gracias por todas esas discusiones tan valiosas que tuvimos en el Taller; y gracias por enseñarme que “para llegar a la meta, no hay que llegar primero, hay que saber llegar” (Piñero, *com. pers.*). Un agradecimiento igual de importante para el Dr. Ortega, quien desde los inicios

me ofreció su ayuda, en particular, por aportar las condiciones correctas de las PCRs, asimismo, por su interés hacia mi trabajo y por su amabilidad y amistad.

No pueden faltar mis amigos y compañeros de mis días en la isla de Cozumel, mejor dicho, isla Lostzumel (Suárez–Atilano, 2009). A Ariana Hernández, Patricia Rincón y al Biól. Marco Alejandro Suárez Atilano. A los tres les agradezco, desde el fondo de mi corazón, su amistad, risas, bromas, ayuda logística en campo, comentarios, relatos, anécdotas, compañía y lealtad de cada uno de ustedes. Si no fuera por su ayuda, quién sabe qué clase de bichos hubiera yo muestreado. Además, agradezco a la M. en C. Sandra Bautista, al Biól. Héctor González Cortés, al M. en C. Héctor Perdomo y la M. en C. Itzel Arista. Gracias por su ayuda, amistad, compañía y apoyo logístico que me brindaron en la Isla Cozumel: en la playa, en el malecón, en los manglares, en los cenotes, en la jungla cozumeleña, en la clínica, en los bares y en el súper.

También agradezco y dedico esta tesis, desde el fondo de mi corazón, a todos los murciélagos de México, especialmente a los habitantes cozumeleños. A ustedes va esta tesis, con el sincero anhelo de que los resultados de este trabajo contribuyan a la causa de protegerlos, cuidarlos y de permitir que quienes los han prejuizado los aprecien mejor.

Ahora, también agradezco a la persona que atentamente ha leído hasta estas líneas y gracias por su voluntad a seguir leyendo lo que sigue.

Agradezco también a mis compañeros del ex laboratorio de Macroecología: M. en C. David Ortiz, Biól. Fabricio Villalobos, Biól. Paulina Trejo y M. en C. Lorena Garrido. Gracias a ustedes por su amistad, su trato cordial, los consejos, comentarios y, porque el buen desempeño académico de cada uno de ustedes en el posgrado es para mí un ejemplo de disciplina, responsabilidad, compromiso y rigor. Mil gracias a nuestro técnico académico, Biól. Gerardo Rodríguez, por su ayuda, compañía y sus atenciones.

También, ofrezco mi más sincera gratitud a todo el staff del actual laboratorio de Genética y Ecología:

Agradezco a todos mis amigos y compañeros, que conformamos (y hemos conformado en diferentes momentos) el Combo Ella Vázquez (Garrido–Garduño, *com. pers.*). Gracias al Biól. Marco Suárez Atilano: también agradezco tu más sincera disposición a ayudarme en todo momento, a aconsejarme en los intrincados caminos de los análisis genéticos, a aclarar muchas dudas, a abrir mis ojos confundidos y a ofrecerme tu compañía. ¡Gracias amigo! Creo que ahora sí me merezco la nominación al Óscar (Suárez–Atilano, 2009). Gracias a la M. en C. Tania Garrido, Biól. Anahí Mejía, M. en C. Susette Castañeda, M. en C. Irma González, Biól. Sunny García, M. en C. Tania Gutiérrez, Biól. Hugo Reyes, Biól. Sayra Espíndola, M. en C. Gualberto Pacheco. A ustedes les debo un sinnúmero de cosas: amistad, risas, consejos, apoyo, comentarios, cariño, respeto, lealtad, ayuda, compañía y paz, en especial en los momentos de angustia y desesperación. Gracias, además, porque su trabajo y excelente desempeño académico de cada uno de ustedes es también un ejemplo de compromiso, entrega, responsabilidad y crecimiento.

Un agradecimiento especial a la Dra. María del Carmen Mandujano, por permitirme hacer uso de las instalaciones de su laboratorio (el ex laboratorio de Dinámica de poblaciones y evolución de historias de vida) durante el trabajo de Biología molecular, por su amabilidad, tolerancia y su buena disposición y atenciones. Muchas gracias a nuestras técnicas académicas: la M. en C. Mariana Rojas Aréchiga y la Dra. Alejandra Vázquez–Lobo Yurén, gracias a ustedes por brindarme su ayuda técnica cada vez que lo necesité y gracias por sus charlas y compañía.

Gracias también a la Biól. Ariadna Morales, a la M. en C. Patricia Landaverde y a la M. en C. Eva María Piedra; gracias por su amistad, por los buenos ratos que conviví con ustedes, por los numerosos consejos y comentarios que aportaron a mi trabajo y mil gracias por creer en mí, por abrirme los ojos en más de una ocasión y por ayudarme y escucharme en momentos difíciles. A ustedes les ofrezco un homenaje porque su ejemplo académico y el trabajo de cada una de ustedes es una fuente inagotable de enseñanzas para mí.

No pueden faltar los demás miembros del staff del laboratorio de Genética y Ecología: M. en C. Ana Wegier, Biól. Brian Urbano, Biól. Valeria Alavez, M. en C. Bianca Santini, Biól. Concepción Martínez, Biól. Sylvia Ruiz, Biól. Rosa Mancilla, Biól. Gisela Aguilar, Biól. Érick García, Biól. Hugo Altamirano, M. en C. Israel Carrillo, Biól. Alejandra Ortiz, Biól. Lev Jardón, Biól. Rodolfo Salas, Dra. Alejandra Moreno, Biól. Mariana Hernández y demás miembros que están y los que han estado; a todos ustedes, mil gracias por su amistad, por brindarme consejos, buen ánimo, ratos graciosos y divertidos y gracias también por el buen ejemplo académico que me dieron.

Agradezco también al Instituto de Ecología de la UNAM, ente académico que fue mi hogar varios años y el escenario donde tuvieron lugar la mayoría de los hechos y aventuras de esta tesis. Agradezco a todo el personal académico y administrativo de este instituto. Deseo mencionar aquí a algunas personalidades del Instituto, quienes en diferentes momentos me ayudaron a superar pequeños y grandes pasos en esta tesis. Gracias al Ing. Alejandro Rodríguez Ponce por muchas facilidades en el área de cómputo y por su trato siempre cordial; gracias a Don José Álvarez González y a la Sra. Paty, ¡sí! Gracias a ustedes por miles de ratos de compañía, por su amabilidad, su trato increíble, sus buenos deseos y gracias por proteger a nuestro instituto. Gracias también a la Mtra. Rocío Graniel por su trato siempre tan agradable en la biblioteca.

Nuevamente agradezco a la persona que ha logrado leer hasta aquí, porque aún hay más.

Segundo rubro: La Universidad y su legado. Va mi gratitud para aquellos entes cívicos y educativos a los que les debo mi formación académica como biólogo.

Gracias a ti, UNAM. ¡Oh, qué emoción sentirte! ¡Alabo tu gloria, poderío y riqueza! A ti, mi Universidad, te debo todo lo que soy ahora. Gracias por tener miles de jardines, bibliotecas, camellones, edificios, aulas, laboratorios y corredores donde encontraba placer y alegría, donde aprendí todos los secretos de la Biología, donde se despertaron en mí, miles de emociones y donde aprendí a ser un hombre de bien y un ciudadano. Algún día, te retribuiré todas las cosas que me has dado, aun si estoy muy lejos de ti. Asimismo, expreso mi gratitud a los hombres y mujeres precursores que hicieron de la Universidad, una realidad y un patrimonio académico para México.

También ofrezco un agradecimiento a mi país, Mexico. Gracias por existir y por ser una nación rica en todo: Naturaleza, cultura, sociedad, economía y educación. Gracias por la confianza depositada en mí, a través de la propia Universidad, confianza que me otorgaste al momento de adquirir el compromiso de formarme como biólogo y de ser de utilidad. A ti también te retribuiré algún día todo lo que me has dado, por muy lejos que pueda llegar a estar.

Ahora, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a aquellos profesores, quienes en diferentes temporadas de la carrera me enseñaron miles de millones de conceptos, protocolos, consejos, nombres científicos y otras muchas cosas asombrosas de la Biología: ¡Profesores, esta tesis va por ustedes!

Zenón Cano, David Benavides, Helia Reyna Osuna, Rosario Arellano, Jorge Luis López, Manuel Miranda, Gabriela Xóchitl Ayala, Belén Garduño, Miguel Ángel Palomino, Marisela Aguirre, Irama Núñez, Alicia Villela, Rosa Zugazagoitia, Ana Adela Sánchez, Francisco Beristáin, Silvia Rivera, Elizabeth Mayén, Rafael Báez, Mayté Olivera, Víctor Manuel Chávez, Claudia Espinosa, Claudia Segal, Beatriz Rodarte, Víctor Valdés, Susana Valencia, Laura Miranda Tapia, Jaime Jiménez, Magali Escandón, Isolda Luna, Othón Alcántara, María Teresa Rubio, Itzel Becerra, Irina Cruz y demás profesores y académicos de la Facultad de Ciencias. ¡Perdón, en verdad porque no mencioné a todos, pero la memoria también es traicionera!

Tercer rubro: Mi familia: Esta tesis también le debe mucho a toda mi familia, así que, va dedicada a toda mi familia:

En primer lugar, quiero decir que esta tesis es un homenaje a mis papás: Rosario Martínez Rosado y Arturo Julio Mendoza Arellano; a ustedes, gracias por darme la vida, su amor, comprensión, atención, gracias por estar conmigo en los mejores momentos de mi vida y en los ratos de desesperación, terror, confusión y angustia; gracias porque ustedes son uno de mis mejores ejemplos de vida: ustedes son ejemplos de amor incondicional, de voluntad férrea, de coraje y tolerancia. Mamá, gracias porque me inculcaste la disciplina, el compromiso, el orden y gracias por aceptar todos y cada uno de mis deseos. Gracias porque siempre creíste en mí, ¡te amo mamá! Papá, gracias porque sólo me has dado lo mejor de tu vida: amor, compañía, consejos, miles de enseñanzas, reflexiones, y gracias porque tú también calmaste innumerables ratos de ansiedad; tú me enseñaste a respetar, a observar las cosas más sutiles, me inculcaste el respeto, la responsabilidad, el rigor y, tu trabajo y acciones son un excelente ejemplo para mí. ¡Te amo papá! Gracias a ustedes dos por seguir juntos y por soportarme.

A ti, Andrea, mi hermanita, gracias por existir y por estar allí en esos años gloriosos que vivimos juntos en casa. Gracias por tus risas, bromas, tus sonrisas más inocentes y espontáneas y porque siempre me brindaste tu inocencia, tu calma y quietud.

Un agradecimiento especial a mis abuelitos: Jacob Mendoza Jiménez (+) y Concepción Arellano Ramírez. A ti, abuelo, que estés en gloria, gracias por quererme desde el día que nací, gracias por creer

en mí y por aceptar mi decisión de ser biólogo, gracias por tu apoyo, tu amor y por abrirme las puertas de tu casa. A ti abuela, mil gracias por tu infinita y santa paciencia y tolerancia conmigo. Gracias por soportar todos mis estallidos de temor, ansiedad, alegría y mis horribles cambios repentinos de ánimo. Gracias por las historias que me contaste desde siempre. Si no fuera por ustedes abuelitos, esta tesis no se habría hecho realidad, por lo que todos los galardones que esta tesis pudiera recibir, son logro también de ustedes.

Gracias también a mi abuelita Nelly Rosado Enríquez (+), donde quiera que estés, te mando mi más profunda gratitud. Gracias por miles de cosas que me enseñaste, gracias por tenerme en tu casa, especialmente en ese último verano antes de iniciar la aventura universitaria.

Gracias a mis tíos: Alejandra Martínez, Alfonso González, Nelly Martínez, Manuel Martínez, Angélica García, Isabel Martínez (+), Roberto Martínez, Jacob David Mendoza, Patricia Rosado, Noemí Pérez, Mercedes González, Trini González, Guadalupe González y a todos los demás tíos que conforman los dos linajes evolutivos de los cuales yo soy la mezcla de ambos. Tía Nelly, mil gracias por abrir mis ojos y hacer que me cayera el veinte de las cosas más esenciales de la vida. Gracias a mis primos: Alejandro González, Karola y Karla Gregoire, Emiliano y Valeria Martínez, Jackeline González, y demás primos. Gracias a ustedes, por miles ratos de afecto, amor y diversión. Un súper agradecimiento a mis tíos: el Mtro. y Químico Adolfo García Osuna y la Q.F.B. Silvia Mendoza Arellano, académicos de la Facultad de Química de la UNAM. Les agradezco su cariño, apoyo, ánimos que me inyectaron, consejos, sugerencias, recomendaciones y gracias por abrirme las puertas de su hogar innumerables veces. Gracias por soportarme y brindarme muchas facilidades para mi trabajo como estudiante. Va esta tesis dedicada para ustedes también.

Pido la más sincera disculpa a la persona que esté leyendo esto, pues sin duda, ha de querer que termine de expresar tanta gratitud. Pero es inevitable hacerlo, y, dado que ya empecé, ¡me atreveré a terminar!

Cuarto rubro: Mis amigos y compañeros.

En primer lugar agradezco en general, y dedico esta tesis, a todos los compañeros e integrantes de la Generación 2005 de la Licenciatura en Biología de la Facultad de Ciencias, UNAM. Conocí y conviví con todos los que pude. Si a ti compañero, jamás te conocí ni te traté, lamento la mala suerte de no habernos encontrado ni compartido muchas experiencias y palabras; espero que esta tesis que ahora leerás (si es que no te has cansado de leer esta sección) la puedas considerar como una aportación que pueda servir a tu sed de conocimiento y como un bien que ofrezco con toda sinceridad y que pueda servir a tus intereses.

Todos mis compañeros de generación fueron valiosos para mí. ¡Lamento no haber sido amigo de todos! Pero les expreso mi más profundo agradecimiento por enriquecer mi formación, por brindarme opiniones, experiencias y anécdotas en las aulas, en los pasillos, en las prácticas de campo y de laboratorio, en el herbario, en la Reserva del Pedregal, en el Metro, en Copilco, etc. ¡Gracias a ustedes compañeros!

Ahora quiero mencionar a todos mis amigos de la Generación 2005, con quienes compartí innumerables momentos de diversión, aprendizaje, conocimiento, techo, dinero, comida, música, bebidas en las fiestas, y chicas hermosas (jaja, ¡No es cierto, es broma!).

Gracias a:

Avelino Guardado, Felipe Eslava y Horacio Gómez por conformar el H. Club de Toby y porque en él, se convirtieron en mis hermanos mayores y siempre me brindaron paz, amistad, cariño, consuelo, lealtad, risas, bromas, aventuras y miles de motivos para celebrar.

No pueden faltar: Abril Escamilla, Ximena Gómez Maqueo, Anet Rivera, Mónica Ramírez, Marisol Olivé, Gaby González, Alejandra Manjarrez, Yara Sánchez, Elena Martínez, Netzi Rivera, Amelia López, Ivonne Peñaflor, Itzel Lara, Rosario Briosio, Rocío Aguilar, Diana Arcos, Vania Rivera, Julieta Domínguez, Sofía Ochoa, Adriana Fournier, Alicia Mastretta, Sara Straffon, Alejandra Isabel Molina, Lucía Ruíz, María Caouich, Nadia Rojano, Ariana Istar. Ustedes, chicas bellas y hermosas, gracias por mostrar lo mejor de su belleza ante mis ojos (¡no piensen mal! Hablo de la belleza interior, ¡aunque es verdad que por fuera son igual de bellas!). Gracias a Alfredo Rodríguez, Carlos Belman, Sergio Nicasio, David Hernández, Marco Antonio Carballo, Juan Manuel Bautista, Alejandro García, Miguel Atl, Arturo Reyes, Arturo Roldán, Diego Jiménez, Jorge Luis Garcés, Rubén García (+), Ricardo Careaga, Luis Bezares, Emilio Díaz, Francisco Riquelme, Gabriel Gálvez, Santiago Morató, Onazys Vicente. Gracias a todos ustedes

amigos, y ahora colegas, por brindarme su apoyo, ayuda, lealtad, amor, compañía, cariño, amistad, buenos deseos, risas, buenos ratos de trabajo en la Fac. Todo lo mejor para ustedes.

Otros amigos míos a los que también les agradezco mucho y les expreso mi mayor aprecio son: Julián Guzmán, Juan Marcos Sánchez, Luis Maldonado, José Luis Romero, Salvador Saavedra, Daniel Mercado, Efrén García, Karina García, Stephanie Romero, Saraí Alvarado, Josué Castellanos, La Montse, Claudia Crisanto, María González "Maruca", Attila Stersky. Por muy lejos que estén algunos de ustedes, siempre los tendré en mi corazón.

Expreso mi más profundo agradecimiento al Dr. Moisés García Salinas "Dr. Tregua"; gracias a usted por escucharme, por darme consejos importantes y sabios y por ser un gran amigo.

¡Ahora sí! Una vez expresada mi más profunda gratitud a quienes han aportado miles de cosas a esta tesis y a mi vida entera, abro el telón.

GRACIAS

ÍNDICE

RESUMEN	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN	12
1.1 Genética de poblaciones	12
1.2 Estructura genética poblacional	14
1.3 Marcadores moleculares: microsatélites	14
1.4 Poblaciones isleñas	16
1.5 Quirópteros	16
1.5.1 Especie de estudio: <i>Artibeus jamaicensis</i>	17
2. ANTECEDENTES	19
2.1 Estudios genéticos en <i>Artibeus jamaicensis</i>	19
2.2 Efectos de factores ecológicos en la estructura genética	20
3. OBJETIVOS	21
4. HIPÓTESIS	21
5. MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1 Sitio de estudio	22
5.2 Trabajo de campo	23
5.2.1 Protocolo de muestreo	23
5.3 Trabajo de laboratorio	25
5.3.1 Extracción de ADN, amplificación y secuenciación	25
5.3.2 Genotipificación de microsatélites	25
5.4 Análisis genéticos	26
5.4.1 Stuttering y alelos nulos	26
5.4.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento	27

5.4.3 Diversidad genética	27
5.4.4 Diferenciación poblacional	28
5.4.5 Estructura genética y diferenciación	28
5.4.6 Asignación de individuos	30
5.4.7 Aislamiento por distancia	30
5.4.8 Análisis de parentesco	31
5.4.9 Agrupación de individuos	31
6. RESULTADOS	33
6.1 Stuttering y alelos nulos	33
6.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento	35
6.3 Diversidad genética	37
6.4 Diferenciación poblacional	37
6.5 Estructura genética y diferenciación	37
6.6 Asignación de individuos, parentesco y agrupación de individuos	43
7. DISCUSIÓN	44
7.1 Diversidad genética	44
7.2 Estructura poblacional y flujo génico	46
8. CONCLUSIÓN	49
9. LITERATURA CITADA	50
ANEXOS	57
ANEXO 1. Protocolo de extracción de ADN	57
ANEXO 2. Condiciones de las PCRs	59
ANEXO 3. Frecuencias alélicas observadas	60
ANEXO 4. Frecuencias alélicas corregidas	63
ANEXO 5. Estadísticos F	67
ANEXO 6. Relaciones de parentesco	67
ANEXO 7. Valores de P de la prueba de equilibrio de Hardy – Weinberg	68

RESUMEN

La genética de poblaciones evalúa el nivel de variación genética y diferenciación dentro y entre poblaciones, tomando en cuenta fuerzas evolutivas como la mutación, deriva génica, migración, sistema de apareamiento y selección natural. Además, la estructura genética está determinada por diversos factores, como el tipo de vegetación en el que se distribuye una especie. En este trabajo se estimó la diversidad y estructura genética en el murciélago zapotero, *Artibeus jamaicensis*, en la Isla Cozumel. En particular, se evaluó si existía diferenciación genética entre tres tipos de vegetación diferentes: selva, manglar y cenotes (11 localidades), empleando seis microsatélites específicos en 104 individuos. La diversidad genética fue relativamente alta ($H_o = 0.693$; $H_{NEI} = 0.825$; $n_a = 8.8$ en selvas, $H_o = 0.702$; $H_{NEI} = 0.710$; $n_a = 5.1$ en manglares, $H_o = 0.695$; $H_{NEI} = 0.847$; $n_a = 9.9$ en cenotes; promedio total $H_o = 0.696$; $H_{NEI} = 0.802$; $n_a = 6.1$), mientras que la diferenciación no fue significativa. Los valores de diferenciación F_{ST} y R_{ST} fueron no significativos entre todas las comparaciones posibles y el nivel de diferenciación global fue marcadamente bajo: $F_{ST} = 0.009$ y $G'_{ST} = 0.088$. Los valores de distancia genética fueron, en general, de bajos a moderados y no hubo aislamiento por distancia. La distribución de la variación genética evaluada a través de un análisis molecular de varianza entre diferentes tipos de vegetación fue nula. Los resultados anteriores están directamente relacionados con la alta movilidad detectada en esta especie en la isla (análisis de asignación) —y consecuente flujo génico—, independiente del tipo de vegetación. El parentesco entre individuos fue bajo ($F = 0.0193$), donde sólo el 14% de los pares de individuos están emparentados. Asimismo, un análisis espacial multilocus mostró que la población isleña de *A. jamaicensis* está compuesta por una sola agrupación genética. Estos resultados muestran que el tipo de vegetación no es un factor que determine la estructuración genética en esta especie, probablemente relacionado con el hecho de que ésta es una especie generalista, tanto de amplitud de dieta como de sitio de percha, con una alta densidad poblacional.

Palabras clave: diversidad genética, tipo de vegetación, microsatélites, Phyllostomidae

ABSTRACT

Population genetics assesses the level of genetic variation and differentiation within and between populations, taking into account evolutionary forces like mutation, genetic drift, migration, mating system and natural selection. The genetic structure is also determined by different factors, for example the vegetation type where the species is distributed. In the present study, the genetic structure and diversity of the Jamaican fruit-eating bat *Artibeus jamaicensis* in Cozumel Island was evaluated. Specifically, the existence of genetic differentiation among three different vegetation types: tropical forest, mangrove and cenotes (11 localities), using six microsatellite loci in 104 individuals. Genetic diversity was relatively high ($H_o = 0.693$; $H_{NEI} = 0.825$; $n_a = 8.8$ in tropical forest, $H_o = 0.702$; $H_{NEI} = 0.710$; $n_a = 5.1$ in mangrove, $H_o = 0.695$; $H_{NEI} = 0.847$, $n_a = 9.9$ in cenotes; total average $H_o = 0.696$; $H_{NEI} = 0.802$; $n_a = 6.1$), while genetic differentiation was not significant. F_{ST} and R_{ST} pairwise differentiation values were not significant among all possible comparisons and the overall level of differentiation was markedly low: $F_{ST} = 0.009$ and $G'_{ST} = 0.088$. Genetic distance values were, in general, from low to moderate and there was not isolation by distance. Genetic variability distribution evaluated through an analysis of molecular variance between different vegetation types was null. These results are likely associated with the high vagility detected in this species on the island (assignment test) —and consequent gene flow—, independent of the vegetation type. Relatedness among individuals was low ($F = 0.0193$), where only 14% of all dyads are related. Likewise, an individual-based clustering algorithm that takes into account multilocus genotypes showed that the *A. jamaicensis* island population comprises only one genetic group or population. The present results show that the vegetation type is not a determining factor of genetic structure in this species, most likely related with its generalist nature regarding diet and roosting sites, together with its high population density.

Keywords: genetic diversity, vegetation type, microsatellites, Phyllostomidae

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Genética de poblaciones

El estudio de las fuerzas evolutivas que afectan la variación genética en las poblaciones, así como el cambio cuantitativo de las frecuencias alélicas, es materia de estudio de la genética de poblaciones. La variación genética se da por cambios en secuencias de ADN resultado de mutaciones nucleotídicas, inserciones o deleciones de fragmentos como los transposones, duplicaciones, o por cambios en la estructura y el número de cromosomas (Wayne y Miyamoto, 2006); además, la recombinación también genera variación a través de procesos como la conversión génica y la hibridación de hebras de ADN (Lewin, 2008).

La genética de poblaciones parte de una base: el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW), la cual enuncia que en ausencia de fuerzas evolutivas las frecuencias alélicas y genotípicas no cambiarán a través de las generaciones si la población tiene un tamaño poblacional infinito, con apareamiento aleatorio, así como, si los individuos tienen reproducción sexual y son diploides (Guo y Thompson, 1992; Hedrick, 2005a; Hamilton, 2009). Si una población no está en EHW, es evidencia de que alguna fuerza evolutiva está actuando sobre dicha población (Hedrick, 2005a).

Si en un locus existen dos alelos, A y a , cada uno de esos alelos tiene una frecuencia relativa en la población, siendo p la frecuencia de A y q la frecuencia de a , de manera que

$$p + q = 1$$

Conociendo las frecuencias alélicas se obtienen las frecuencias genotípicas esperadas en una población en equilibrio; p^2 es la frecuencia del genotipo AA ; $2pq$ es la frecuencia del genotipo Aa y q^2 es la frecuencia del genotipo aa .

$$\text{Por lo que: } p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Esta ecuación se refiere a la Ley del equilibrio de Hardy-Weinberg (Hamilton, 2009). Si la población tiene frecuencias genotípicas que difieren estadísticamente de las esperadas, la población no está en EHW (Hedrick, 2005a).

Las fuerzas evolutivas que afectan la variación genética son:

- a) La *selección natural*, que es el mantenimiento de fenotipos y genotipos que favorecen la supervivencia y aumentan la tasa de reproducción de los individuos, según las condiciones ambientales (Castillo-Cobián, 2007; Hamilton, 2009).
- b) La *deriva génica*, que es la fluctuación aleatoria de frecuencias alélicas cuya magnitud depende del tamaño poblacional (Gillespie, 2004).
- c) La *migración* o *flujo génico*, que es el movimiento de alelos entre subpoblaciones, resultado del intercambio génico entre individuos residentes y migrantes (Hedrick, 2005a).
- d) La *mutación*, que es el cambio al azar y permanente en el ADN que origina nuevos alelos a una cierta tasa, que generalmente es muy baja (Futuyma, 2005; Hamilton, 2009).
- e) El *apareamiento aleatorio*, ocurre en una población donde todos los individuos tienen la misma probabilidad de aparearse con todos. Pero si el apareamiento no es aleatorio, se promueve la *endogamia* o el apareamiento entre individuos emparentados (Hedrick, 2005a).

El motor que impulsa la evolución es la variación genética (Wayne y Miyamoto, 2006), de la cual surge la capacidad de las poblaciones para adaptarse a condiciones diferentes del ambiente. Se considera que el tener altos niveles de variación genética conlleva a tener una mejor capacidad para la adaptación, aunque hay excepciones a esta regla (Amos y Harwood, 1998).

Existen varias formas de medir la variación genética. La más utilizada es la *heterocigosidad*, que es la proporción de heterocigotos presentes en una población (Gillespie, 2004; Hedrick, 2005a); esta medida tiene un valor esperado para una población en EHW y un valor observado que puede ser, o no, próximo al esperado (Hedrick, 2005a). Otra medida es la *proporción de loci polimórficos* que existe respecto al número total de loci estudiados; un locus polimórfico es aquel cuya frecuencia del alelo más abundante es menor a 0.95. Otras medidas son: el *número de alelos observados*, que es el número de alelos presentes en un locus para una población y el

número efectivo de alelos, que se define como el recíproco de la homocigosidad esperada (Hedrick, 2005a).

1.2 Estructura genética poblacional

En la mayoría de las especies, las poblaciones se dividen en *subpoblaciones* más pequeñas, dentro de las cuales hay apareamiento entre individuos; a esta dinámica se le denomina *estructura poblacional* (Hartl y Clark, 2006). Esta dinámica conlleva a que la probabilidad de que dos individuos de la población, escogidos al azar, se apareen, no es la misma para todos los individuos (Hamilton, 2009), lo que a su vez provoca que las frecuencias alélicas entre las subpoblaciones sean diferentes; cuando esto ocurre, las subpoblaciones están *diferenciadas genéticamente* (Hartl y Clark, 2006). El flujo génico es la fuerza evolutiva contraria a la diferenciación genética porque promueve la homogenización de las frecuencias alélicas entre las subpoblaciones y, además, influye en el efecto de otras fuerzas evolutivas como la selección y la deriva génica (Balloux y Lugon-Moulin, 2002). Cuando una población presenta estructura, la diversidad genética dentro de las subpoblaciones se reduce, debido a que los apareamientos ocurren predominantemente entre individuos de una misma subpoblación, lo cual puede aumentar el nivel de endogamia (Balloux y Lugon-Moulin, 2002; Hartl y Clark, 2006).

El método más usado para medir la estructura genética son los estadísticos F (Wright, 1931), que en general son una medida de la deficiencia de heterocigotos en una población respecto a los heterocigotos que habrían en EHW. Existen tres estadísticos F : F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} . F_{IS} mide la desviación del EHW dentro de las subpoblaciones y tiene valores negativos si hay un exceso de heterocigotos y valores positivos si hay una deficiencia de éstos; F_{IT} es la medida de la desviación del EHW en toda la población; y F_{ST} mide la divergencia genética entre subpoblaciones y sus valores pueden ir de 0 (nula divergencia) a 1 (cuando todos los alelos son diferentes entre las subpoblaciones) (Allendorf y Luikart, 2007).

1.3 Marcadores moleculares: microsatélites

La variación genética se mide por medio de marcadores que reflejan polimorfismos moleculares. La mayoría de los marcadores moleculares utilizados en estudios

genéticos son aquellos que presentan polimorfismos en el ADN, ya sea en secuencias nucleotídicas o en variación del tamaño en pares de bases (pb) (Vignal *et al.*, 2002; Avise, 2004).

Dentro de los marcadores moleculares más usados se encuentran los *microsatélites*, que son repeticiones en tándem de un motivo compuesto de 1 a 6 nucleótidos, encontrándose en todos los seres vivos conocidos (Hancock, 1999). Se considera que son secuencias neutrales no codificantes (Schlötterer y Wiehe, 1999; Oliveira *et al.*, 2006); no obstante, intervienen en la organización estructural de los cromosomas y pueden influir en la recombinación, la replicación del ADN, el ciclo celular y en la expresión de genes (Li *et al.*, 2002). Dado que poseen una alta tasa de mutación, son muy útiles en estudios genéticos. Gran parte de las mutaciones que ocurren en los microsatélites consisten en cambios en el número de repeticiones del motivo en el alelo (Eisen, 1999), lo cual se traduce en alelos que difieren en tamaño (en pb), por lo que los genotipos se obtienen por diferentes combinaciones de alelos de diferente tamaño (Selkoe y Toonen, 2006). Los microsatélites están delimitados por unas secuencias llamadas *regiones flanqueantes*, las cuales son conservadas entre poblaciones e inclusive entre especies cercanas. De estas secuencias se diseñan oligonucleótidos o primers complementarios para amplificar, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés), el locus microsatelital (Selkoe y Toonen, 2006).

Diferentes parámetros genéticos tales como la estimación de diferenciación o tasa de migración entre poblaciones, están basados en el modelo mutacional del marcador molecular particular que se usa. Como los microsatélites tienen una alta tasa de mutación, se han propuesto varios modelos mutacionales para analizar este tipo de marcador. El más común es el *modelo de alelos infinitos* (IAM por sus siglas en inglés), que considera que una mutación en un microsatélite involucra una adición o delección de un número aleatorio de repeticiones, por lo que el nuevo alelo no existía previamente en la población. Otro modelo utilizado es el de *mutación paso a paso* (SMM por sus siglas en inglés), que postula que una mutación se da por la adición o delección de una sola repetición, de modo que un alelo mutará sólo a tamaños alélicos muy cercanos a los ya existentes (Estoup y Cornuet, 1999). Una variación del SMM, llamado *modelo de*

mutación en dos fases (TPM por sus siglas en inglés) (di Rienzo *et al.*, 1994), señala que las adiciones o deleciones que un microsatélite sufre pueden abarcar una o varias repeticiones (Estoup y Cornuet, 1999).

1.4 Poblaciones isleñas

Las islas en general tienen una superficie limitada y, dependiendo de su ubicación geográfica, son propensas a experimentar perturbaciones causadas por fenómenos naturales como vulcanismo, sismicidad y huracanes, entre otros (Fleming y Racey, 2010). Ello promueve que las islas tengan una baja riqueza de especies (Fleming y Murray, 2009), tamaños poblacionales pequeños (Abdelkrim *et al.*, 2005) y una alta predisposición a la extinción de sus especies (Frankham, 1997).

Las poblaciones isleñas suelen presentar baja diversidad genética. Cuando una nueva población se establece en una isla, los individuos fundadores son normalmente una muestra pequeña comparada con aquella de la que se originaron (del continente o de otra población isleña), lo que provoca que la diversidad genética de la nueva población se reduzca drásticamente, lo cual se asocia además con procesos como deriva génica, cuellos de botella, etc. (Allendorf y Luikart, 2007). Asimismo, la población isleña comúnmente presenta alta divergencia respecto a la población continental (Frankham, 1997; Abdelkrim *et al.*, 2005). Finalmente, las poblaciones isleñas normalmente mantienen bajos niveles de diversidad genética, ello asociado a tamaños poblacionales pequeños (dependiendo del flujo génico que pueda tener con otras poblaciones).

1.5 Quirópteros

Los murciélagos, mamíferos del orden Chiroptera, son un grupo con gran diversidad de especies, cerca de 1116 en el mundo (Kerth, 2008), de las cuales aproximadamente 140 se encuentran en México (Medellín *et al.*, 1997). Una de las causas de la alta diversificación de los quirópteros fue la adquisición de la capacidad de volar, única entre los mamíferos (Sears *et al.*, 2006). Estos animales pueden vivir en una gran variedad de ecosistemas terrestres y en un rango altitudinal muy amplio (Medellín *et al.*, 1997); en las regiones neotropicales son de los mamíferos más abundantes y diversos

(Ceballos y Miranda, 2000). Es destacable la amplia diversidad de hábitos alimentarios que tienen, hay especies frugívoras, folívoras, insectívoras, piscívoras, carnívoras, nectarívoras, polinívoras y hematófagas (Medellín *et al.*, 1997; Ceballos y Miranda, 2000). Gracias a esta diversidad de hábitos, los murciélagos desempeñan funciones ecológicas vitales, siendo importantes dispersores de semillas y polinizadores de muchas plantas tropicales y de zonas desérticas, además de ser fundamentales para el control biológico de poblaciones de artrópodos y de pequeños vertebrados (Medellín *et al.*, 1997; Ceballos y Miranda, 2000; Burland y Worthington-Wilmer, 2001).

1.5.1 Especie de estudio: *Artibeus jamaicensis*

Artibeus jamaicensis es una de las especies más abundantes del Neotrópico (Larsen *et al.*, 2007). Pertenece a la subfamilia Stenodermatinae, dentro de la familia Phyllostomidae. Presenta alta variación morfológica en toda su distribución. Tiene una longitud corporal total que varía de 65 a 94 mm; la longitud del antebrazo oscila de 52 a 67.4 mm, mientras que el peso va de 29 a 51 g. El pelaje del dorso puede ser grisáceo, café grisáceo, raramente café oscuro, mientras que el pelaje ventral es más pálido o de tono nevado; presenta uropatagio angosto y desnudo o con escaso pelo; las patas y antebrazos también tienen poco pelo; las líneas supraorbitales blancas del rostro son tenues o ausentes; carecen de cola, tienen alas anchas color gris oscuro y la hoja nasal está muy desarrollada (Medellín *et al.*, 1997; Reid, 1997; Ortega y Castro-Arellano, 2001; Ortega y Steers, 2005).

Esta especie puede vivir en bosque tropical lluvioso o seco, bosque mesófilo, sabanas y en hábitats modificados por el hombre; percha en cuevas, huecos de troncos, follaje, tiendas formadas por hojas, túneles y también en construcciones humanas abandonadas (Ortega y Arita, 1999; Ortega y Castro-Arellano, 2001; Ortega y Steers, 2005). Puede encontrarse en hábitats cuya altitud oscila del nivel del mar a 2230 msnm (Ortega y Steers, 2005). Es esencialmente frugívoro aunque, según la disponibilidad de recursos, puede comer también hojas, insectos, flores, néctar y polen y, puede alimentarse de una amplia diversidad de especies vegetales, si bien se especializa en el consumo de higos (Flores-Martínez, 1999; Manzo y Estrada, 2000; Ortega y Castro-Arellano, 2001). Asimismo, presenta densidades poblacionales muy

altas, incluso de 200 individuos por km² (Ortega y Castro-Arellano, 2001). Algunos de sus depredadores son los búhos y lechuzas, boas y otras serpientes arbóreas, tlacuaches, coatíes y halcones (Ortega y Castro-Arellano, 2001; Ortega y Steers, 2005).

Tiene un patrón de reproducción poliéstrico bimodal en el que poco después de parir y durante la lactancia, las hembras están receptivas, por lo que pueden tener hasta dos crías por año y, por lo tanto, hay dos picos de nacimientos anuales, los cuales están influenciados por la disponibilidad estacional de alimento, llegando a presentarse desarrollo embrionario retardado en las hembras para que las crías nazcan en la época de abundancia de recursos (Steers, 1998; Ortega y Arita, 1999; Ortega y Castro-Arellano, 2001; Ortega y Steers, 2005). La especie presenta un sistema de apareamiento poligínico, en el que las hembras se agrupan en harems y un macho dominante se aparea con éstas y las defiende de los machos satelitales. En harems medianos hay un sólo macho dominante, pero en harems de mayor tamaño (>14 hembras) el macho dominante tolera a un macho subordinado, que colabora en la defensa de las hembras y también se aparea con éstas (Ortega *et al.*, 2008). El sistema poligínico es más estable en ambientes donde el sitio de percha es abundante, como en cuevas, ya que los machos sólo tienen que defender a las hembras de esa cueva, pero donde los sitios de percha disponibles son escasos (huecos de troncos o follaje) los harems son menos estables. Finalmente, se ha estimado que un individuo de *A. jamaicensis* puede vivir hasta nueve años (Ortega y Castro-Arellano, 2001).

Anteriormente se pensaba que la distribución geográfica de *A. jamaicensis* era muy amplia; además, debido a la considerable variación morfológica que presenta, se llegó a establecer que tenía hasta 13 subespecies (Simmons, 2005), abarcando cada una extensas regiones neotropicales, desde Tamaulipas y Sinaloa en México, el sur de Florida en Estados Unidos, hasta el extremo norte de Argentina, así como todo el Caribe (Davis, 1970; Ortega y Castro-Arellano, 2001; Larsen *et al.*, 2007; Redondo *et al.*, 2008). Sin embargo, nuevos estudios filogenéticos entre las subespecies de *A. jamaicensis* y entre las especies del género *Artibeus* han mostrado que algunas subespecies son realmente especies, que la distribución límite de *A. jamaicensis* se restringe al norte de Colombia y sólo lo conforman seis subespecies (Larsen *et al.*, 2007, 2010a, 2010b; Redondo *et al.*, 2008). Las subespecies que hay en México son

cuatro: *triomylus*, *richardsoni*, *paulus* y *yucatanicus* (Hall, 1981; Ortega y Steers, 2005), esta última está presente en Isla Cozumel (Jones y Lawlor, 1965; Hall, 1981; Engstrom *et al.*, 1989).

2. ANTECEDENTES

2.1 Estudios genéticos en *Artibeus jamaicensis*

Existe amplia información sobre la filogeografía y la historia evolutiva de *A. jamaicensis* con base en estudios de ADN mitocondrial (ADNmt) (Pumo *et al.*, 1988; Phillips *et al.*, 1991; Carstens *et al.*, 2004; Larsen *et al.*, 2007; Fleming *et al.*, 2010). En estos trabajos se han documentado niveles altos de diversidad genética y evidencias de flujo génico entre poblaciones, especialmente entre islas distantes de las Antillas y entre poblaciones de la península de Yucatán con el Caribe, en virtud de la alta vagilidad de la especie.

Recientemente se han hecho algunos estudios utilizando marcadores nucleares como microsatélites; un ejemplo es el trabajo de Ortega *et al.* (2003) quienes estudiaron harems en dos cuevas de Yucatán y encontraron que, aunque los machos dominantes tienen el mayor éxito reproductivo, otros machos pueden engendrar crías si el tamaño del harem es suficientemente grande. Otro resultado importante es que entre todos los adultos y entre todas las crías, el parentesco fue muy bajo o nulo. Fleming y Murray (2009), usando microsatélites y la región control del ADNmt, determinaron que, tras la llegada del huracán Iván a la isla Gran Caimán en 2004, la diversidad genética microsatelital no disminuyó y el número de haplotipos aumentó después del huracán. Utilizando AFLPs nucleares y citocromo *b*, Larsen *et al.* (2010a) probaron que, resultado de la hibridización entre *A. jamaicensis* y *A. planirostris*, surgió la especie *A. schwartzi*, la cual se restringe a la isla antillana de San Vicente y a otros islotes aledaños.

Así, los estudios genéticos realizados con *A. jamaicensis* han sido mayormente sobre la inferencia de patrones evolutivos en escalas geográficas amplias y en un marco temporal que abarca millones de años. Sin embargo, a excepción de Ortega *et al.* (2003) y Fleming y Murray (2009), no se han realizado estudios genéticos en esta especie en donde se evalúen patrones de variación y estructura genética a una escala

geográfica local y en escala temporal reciente. Tampoco se ha evaluado con esta especie la relación entre variables ambientales (bióticas o abióticas) y la diversidad y estructura genética a escala local.

2.2 Efectos de factores ecológicos en la estructura genética

En murciélagos migratorios, el flujo génico suele ser elevado, aun en escalas geográficas amplias (miles de km), mientras que, en especies con escasa movilidad, la diferenciación genética entre poblaciones, en general, es mayor, especialmente a una escala geográfica elevada (Burland y Worthington-Wilmer, 2001). Sin embargo, existen factores ecológicos, como las condiciones prevalecientes del hábitat en el que se encuentra una especie (e.g., tipo de vegetación, disponibilidad de recursos, humedad, temperatura), así como sistemas de organización social en grupos o colonias, que pueden propiciar patrones de estructura genética a una escala local o regional (Juste *et al.*, 2009).

Miller-Butterworth *et al.* (2003) estudiaron la estructura genética del murciélago *Miniopterus schreibersii natalensis*, en Sudáfrica, cuya vagilidad es relativamente alta. El principal hallazgo fue que las colonias de esta especie se estructuraban en tres subpoblaciones, cuya distribución espacial correspondía con cuatro biomas diferentes de Sudáfrica, que son fundamentalmente pastizales, matorrales y sabana. Es posible que la estructura genética haya sido moldeada por adaptaciones locales a cada bioma, como por ejemplo, la sincronización del ciclo reproductivo a la época de mayor disponibilidad de alimento.

Utilizando el ADNmt, Juste *et al.* (2009) analizaron la estructura genética del murciélago *Eptesicus isabellinus*, en el norte de África y sur de España. Los resultados mostraron que hay flujo génico entre las regiones del norte de Marruecos y de Andalucía, sin embargo, a escala local, sí hubo diferenciación significativa entre colonias dentro de una misma región, lo cual fue asociado a la filopatría de las hembras. De esta manera, Juste *et al.* (2009) demostraron que los patrones de estructura genética pueden variar entre escalas geográficas, debido a factores ecológicos como la conducta de dispersión.

3. OBJETIVOS

- Estimar la variación genética de *Artibeus jamaicensis* en la Isla Cozumel utilizando microsatélites específicos.
- Determinar si existe una estructura genética en *A. jamaicensis* entre tres tipos de vegetación (manglar, selva y cenotes) presentes en Isla Cozumel.

4. HIPÓTESIS

- A pesar de que la población estudiada es isleña, se esperaría que *A. jamaicensis* en Isla Cozumel presente alta diversidad genética, dado que tiene poblaciones abundantes y con densidades altas.
- Dado que *A. jamaicensis* habita diferentes tipos de vegetación, se alimenta de una gran variedad de recursos, utiliza varios sitios de percha y tiene alta vagilidad, aunado a que en ausencia de cuevas (como en Cozumel) sus harems son menos estables, no se espera una estructuración genética significativa entre los tipos de vegetación.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Sitio de estudio

La Isla Cozumel se localiza a 17.5 km de la costa oriental de la península de Yucatán, con una extensión de 486 km². El terreno es calcáreo, de origen coralino, muy permeable, por lo que gran parte del agua dulce disponible es subterránea. Debido a esto, los cuerpos de agua predominantes en la isla son los cenotes, que son conductos verticales típicamente cilíndricos formados por la erosión hídrica sobre el suelo calcáreo. Los cenotes son el principal recurso de agua dulce para la vida silvestre y para las comunidades humanas, siendo esenciales durante la temporada seca (Martínez-Morales, 1996). Otros cuerpos de agua dulce en Isla Cozumel son las lagunas costeras y las aguadas (González-Baca, 2006).

El clima es cálido húmedo con lluvias intensas en verano, con una temperatura media anual de 26°C y una precipitación promedio anual de 1570 mm. El periodo anual más cálido va desde abril a mediados de septiembre con una marcada estacionalidad en el régimen de lluvias. El periodo de máxima precipitación media ocurre entre abril y octubre, habiendo una breve temporada seca entre julio y agosto; entre diciembre y febrero son frecuentes los nortes, de modo que en esta época también se presentan lluvias, pero de menor intensidad (Martínez-Morales, 1996; González-Baca, 2006).

En Isla Cozumel existen principalmente tres tipos de vegetación (Martínez-Morales, 1996; González- Baca, 2006):

- a) *Selva mediana subcaducifolia*. Ocupa el 65% de la superficie isleña y el dosel alcanza una altura de entre 8 y 20 m, siendo más alto hacia el centro de la isla. Presenta un sotobosque compuesto de plántulas de especies arbóreas y otras plantas herbáceas, matorrales, epífitas y trepadoras. Este bosque crece en suelo poco profundo y con poca materia orgánica. Las zonas de selva que rodean los cenotes tienen árboles que retienen por más tiempo sus hojas a lo largo del año, haciendo parecer que se trata de una selva semiperennifolia.
- b) *Selva baja subcaducifolia*. Su estrato arbóreo mide de 8 a 12 m de altura y abarca el 6% de la superficie insular. Las especies epífitas y trepadoras son más escasas, excepto en zonas donde hay inundaciones estacionales. Se distribuye

principalmente hacia el perímetro de la isla, rodeando a la selva mediana y detrás de los manglares, pantanos y dunas costeras.

- c) *Manglar*. Ocupa el 16% de la superficie insular. El dosel se sitúa entre 5 y 10 m; se encuentran algunas epífitas y trepadoras. Tiene baja diversidad de especies, alta temperatura y humedad y suelos ricos en materia orgánica, ya que se inunda periódicamente con aguas salobres. Se localiza principalmente cerca de la costa este, aunque hay manchones de manglar hacia la costa oeste y alrededor de las lagunas costeras del norte y sur de la isla.

Además, en la isla se presentan otros tipos de vegetación de menor superficie como el tasistal, el tular o saibal y la vegetación halófila de dunas costeras. En las regiones donde la vegetación nativa ha sido removida por actividades humanas o fenómenos naturales, se localiza vegetación secundaria, que se compone de especies pioneras, ruderales y de rápido crecimiento (Martínez-Morales, 1996; González-Baca, 2006). Existe un gradiente de vegetación a partir de la costa este de la isla donde predomina la vegetación de dunas costeras, seguida por el tasistal y el tular, luego el manglar, después la selva baja subcaducifolia y, finalmente hacia el centro, la selva mediana subcaducifolia, que se extiende hasta la costa oeste, alternándose con pequeñas áreas de manglar (Romero-Nájera, 2004).

La Isla Cozumel posee siete especies y 18 subespecies de vertebrados endémicos (Cuarón *et al.*, 2004) y se han registrado cerca de 15 especies de murciélagos (Jones y Lawlor, 1965; Hall, 1981; Engstrom *et al.*, 1989; Reid, 1997).

5.2 Trabajo de campo

5.2.1 Protocolo de muestreo

Se capturaron murciélagos en tres localidades de Isla Cozumel: selva mediana o baja, manglar y cenotes, entre enero y marzo de 2008. A pesar de que los cenotes pueden estar circundados tanto por selva como por manglar u otra comunidad vegetal, la diferencia tajante que permite considerarlos como localidades diferentes es el hecho de incluir dicho cuerpo de agua (E. Vázquez-Domínguez, *com. pers.*). Así, los cenotes fueron elegidos sin importar el tipo de vegetación circundante. Se muestrearon cuatro

réplicas de cada tipo de vegetación (localidad) en tres eventos de muestreo, separados por un promedio de 12 días para disminuir la perturbación. Como este proyecto se realizó conjuntamente con otros dos proyectos de investigación en proceso, sobre la diversidad de especies de murciélagos y sobre la evaluación de la actividad de murciélagos insectívoros por medio de la detección de ultrasonido (Hernández – Lira, *en prep.*; Rincón - Sandoval, *en prep.*), todos los muestreos fueron realizados de noche. Las colectas se realizaron con redes de niebla de fibra de nylon de un ancho de 6 ó 12 m y una altura de 2.5 m; para todos los eventos de muestreo se cubrió una distancia total de red de 96 m. En selva y manglar se colocaron las redes a través de senderos y, dependiendo de las condiciones que presentaban, se separaron las redes entre 1 y 100 m. En el caso de los cenotes, las redes se colocaron rodeando lo más posible la circunferencia de éstos. Las redes se abrieron a la hora exacta del ocaso determinada por un GPS y se cerraron cinco horas después, de manera que el esfuerzo de muestreo fue de $96 \text{ m} * 5 \text{ h} = 480 \text{ redes hora}$ en cada evento de muestreo. Todas las redes fueron georreferenciadas por medio del GPS colocado debajo y a la mitad de éstas y todos los murciélagos fueron georreferenciados con las coordenadas de la red en que cayeron. Los murciélagos fueron identificados en campo a nivel de especie por medio de guías de identificación taxonómica (Medellín *et al.*, 1997; Reid, 1997). Se midió la longitud del antebrazo y masa corporal, se determinó sexo y edad de cada individuo.

En cada evento de muestreo se eligieron al azar entre 5 y 10 de los individuos de *A. jamaicensis* capturados, de los cuales se tomó una muestra de tejido. Las hembras preñadas con un estadio avanzado de gestación fueron descartadas, para no provocar estrés perjudicial en la gestación (Orozco – Lugo, *com. pers*). Con una pinza de relojero y tijeras de disección esterilizadas se extrajo un pedazo de membrana alar de entre 1 y 5 mm en cada ala. Los tejidos se preservaron en tubos eppendorf con etanol al 97% (v/v) hasta su procesamiento en el laboratorio.

5.3 Trabajo de laboratorio

5.3.1 Extracción de ADN, amplificación y secuenciación

El ADN genómico de todos los individuos se extrajo siguiendo el protocolo del kit QuickGene DNA Tissue Kit S Mini80 (FUJI FILM) con modificaciones (v. Anexos). La calidad del ADN fue probada por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1% (m/v) teñido con bromuro de etidio (10mg/mL) y visualizado con luz UV.

Se amplificaron seis microsatélites por medio de la PCR, empleando primers específicos para *A. jamaicensis* (Ortega *et al.*, 2002): AjA40, AjA185, AjA151, AjB464, AjA84 y AjA123. Para el primer forward de cada locus se añadió un marcador fluorescente (Tabla 1). El volumen de reacción de PCR fue de 5 µl con las condiciones siguientes: 1.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de dNTPs, 0.4 µM de cada primer, buffer de reacción al 10X y 0.25 U de *Taq* polimerasa. Se utilizaron dos termocicladores (PTC-100; MJ Research Inc, BIORAD y ATC 201; Apolo Instrumentations) con el siguiente protocolo: 96°C por 5 min, 30 ciclos de 96°C por 45 s, 56°C o 60°C por 45 s y 72°C a 45 s, seguido por una extensión final de 72°C por 5 min. La temperatura de alineamiento para todos los loci fue de 56°C, excepto para AjA123 y AjA185, cuya temperatura fue de 60°C (v. Anexos). Se utilizaron controles negativos para descartar contaminaciones.

Todas las reacciones de PCR se realizaron con un solo locus y los productos se mezclaron (multiplex), de acuerdo con el rango de pb de cada microsatélite y según el fluoróforo de cada par de primers (Tabla 1). Los productos de PCR fueron secuenciados en un ABI 3730xl genetic analyzer (Applied Biosystems) por la empresa DNA Core Sequencing Facility de la Universidad de Illinois, EUA.

5.3.2 Genotipificación de microsatélites

Los microsatélites se genotipificaron con el programa GENEMAPPER v. 3.7 (Applied Biosystems), con el método de análisis para microsatélites (*microsatellite default*) y empleando el panel de visualización *tutorial panel 9*. Para la identificación de los alelos en los cromatogramas se tomó como criterio el considerar el pico más alto como el alelo, siempre que éste se encontrara en o cerca del rango de pb reportado para el locus. Ya que los microsatélites son dinucleótidos (Ortega *et al.*, 2003), la designación de los alelos se realizó por pares. El valor aritmético (con decimales) del tamaño de los

alelos (en pb) fue redondeado siguiendo una convención para dinucleótidos (Matschiner y Salzburger, 2009; E. Vázquez-Domínguez *com. pers.*). Todos los valores pares se conservaron sin los decimales (e.g. 102.35 pb, queda como alelo 102); en el caso de valores impares, si el decimal es ≤ 4 (e.g. 101.4 pb) se redondeó al par inferior próximo (100 en el ejemplo) y si el decimal es ≥ 5 se redondeó al par superior próximo (e.g. 101.5 pb se redondea a 102).

Tabla 1. Microsatélites en *Artibeus jamaicensis* (Ortega *et al.*, 2002) amplificados

Locus	Motivo	Primers 5' – 3' ¹
AjB464	(CT) ₂₇ (CA) ₁₄	F: FAM – CACCAGCCAGGGCTTATTTA R: AGCCCAAGAATTTCTTCG
AjA123	(CA) ₁ (CA) ₁₇ CT(CA) ₁₂	F: HEX – GACCACTTTTCCTCCCATGAC R: CCTGAGCTAATACTCCAGAGGAAG
AjA40	(GT) ₁₃ N ₆ (CT) ₃	F: FAM - GATGTGAATGGTGTTTTTAGAGCTT R: CTCTACAGTGGACCCACATCATT
AjA151	(CA) ₃ N ₉ (GT) ₁₇	F: HEX – GGGTGGAAAGGGAGAGAAAA R: GAAGCTCTTCCCTGACCACTTA
AjA185	(CA) ₁₄	F: HEX – CAATAAGAAATGGTGCAGGA R: CTCAGTGTCTAGCACAGTGGTT
AjA84	(CA) ₃ TA(CA) ₆ N ₃ (CA) ₅ N ₉ (CA) ₉	F: FAM ACTGTGACTGGGAGTAAACTTCTG R: TCCTGCACTCAGGACACTTC

¹En negritas se indica el fluoróforo adjunto en el extremo 5' de cada primer F.

5.4 Análisis genéticos

5.4.1 Stuttering y alelos nulos

Los microsatélites tienen algunas desventajas:

1) Durante la PCR, en ocasiones se obtienen fragmentos de un tamaño diferente del alelo real, llamados *stutters*, que pueden producir errores en la genotipificación y estimaciones erróneas en los estudios genéticos, e.g. un exceso de homocigotos (van Oosterhout *et al.* 2004).

2) Algunas veces los alelos de tamaño grande se amplifican en un número escaso de copias respecto a los alelos de tamaño menor; a esto se le llama *dominancia de alelos pequeños* (*large allele droop – out*) (van Oosterhout *et al.*, 2004).

3) Cuando las regiones flanqueantes tienen mutaciones, los primers ya no pueden unirse y el alelo no amplifica, lo que se conoce como *alelo nulo*. La presencia

de alelos nulos puede afectar los análisis genéticos, fundamentalmente porque producen un exceso de homocigotos (van Oosterhout *et al.*, 2004).

Con el fin de descartar los problemas arriba mencionados, se utilizó el programa MICROCHECKER v. 2.2.3 (van Oosterhout *et al.*, 2004). El análisis se realizó con un intervalo de confianza del 95% y con 1,000 aleatorizaciones, analizando cada locus por poblaciones separadas; en este caso se determinó como población cada localidad de muestreo.

5.4.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento

Se realizó una prueba exacta del EHW (Guo y Thompson, 1992) para evaluar si las localidades estaban en equilibrio; esta prueba se realizó por cada locus en cada localidad y su significancia se estimó con el algoritmo de cadenas de Markov (MC) (Guo y Thompson, 1992) con 10,000 dememorizaciones, 1,000 batches y 10,000 iteraciones por batch. Además se realizaron pruebas de EHW por cada locus con todas las localidades en conjunto, por cada localidad sobre todos los loci en conjunto y de forma global; la significancia de estas pruebas fue evaluada con pruebas exactas de Fisher. Simultáneamente se obtuvieron los coeficientes de endogamia (F_{IS}) calculados según Weir y Cockerham (1984), que indica si la desviación del EHW se debe a un exceso o deficiencia de heterocigotos. La presencia de desequilibrio de ligamiento se evaluó en cada par de loci sobre todas las localidades en conjunto, con una prueba de exacta de Fisher, 10,000 dememorizaciones, 1000 batches y 10,000 iteraciones por batch. Para ambas pruebas se utilizó el programa GENEPOP v. 4.0.10 (Rousset, 2008). Todos los valores de significancia (valores de P) de las pruebas de EHW y de desequilibrio de ligamiento, por tratarse de comparaciones múltiples, fueron corregidos con el método de corrección de Bonferroni secuencial (Rice, 1989).

5.4.3 Diversidad genética

Se estimaron las frecuencias alélicas por locus y por localidad y se determinó la presencia de alelos privados (v. Anexos). Asimismo, se calculó la heterocigosidad observada, la heterocigosidad esperada no sesgada de Levene (1949) y la de Nei (1973), así como el número efectivo de alelos y el de alelos observados, por localidad

por locus y promediando en cada localidad sobre todos los loci. Para ello se usó el programa GENALEX v. 6.3 (Peakall y Smouse, 2006).

5.4.4 Diferenciación poblacional

La diferenciación genética entre poblaciones se analizó con dos pruebas: 1) con base en la diferenciación alélica y genotípica en cada par de localidades sobre todos los loci en conjunto; ello con una prueba de exacta de Fisher, y 2) con la diferenciación alélica y genotípica por cada locus sobre todas las localidades, con una prueba exacta de G (Goudet *et al.*, 1996), y con cadenas de Markov para obtener los valores de P . Para todas las pruebas de diferenciación se usaron 10,000 dememorizaciones, 1,000 batches y 10,000 iteraciones por batch. Los valores fueron, asimismo, corregidos con el método Bonferroni secuencial. Estos análisis se efectuaron en GENEPOP.

5.4.5 Estructura genética y diferenciación

Con el programa GENEPOP se calcularon los estadísticos F_{IS} , F_{IT} , F_{ST} por locus en toda la población de acuerdo con Weir y Cockerham (1984). También, se estimó la distancia genética entre localidades con el programa POPGENE v. 1.31 (Yeh *et al.*, 1999). Así, se obtuvo una matriz de distancias genéticas no sesgadas de Nei (1978) entre pares de localidades. Esta distancia es recomendada al tener tamaños de muestra pequeños, ya que el sesgo causado por pocos individuos provoca que la distancia se sobreestime (Nei, 1978).

Con el programa ARLEQUÍN v. 3.11 (Excoffier *et al.*, 2005) se calcularon, para todos los pares de localidades, los índices de F_{ST} y R_{ST} (Slatkin, 1995); este último es más adecuado para microsatélites porque se basa en la varianza del tamaño de los alelos que hay entre poblaciones y porque los microsatélites en general tienen una dinámica mutacional que se ajusta al modelo SMM (Vega *et al.*, 2007). Se estimó la significancia con 20,000 permutaciones con un umbral de $P < 0.05$. Los valores de P de cada par de localidades se corrigieron con el método Bonferroni secuencial. También se estimó el número de migrantes (Nm), basado en F_{ST} y R_{ST} , entre pares de localidades.

Para determinar la distribución de la variación genética se realizó un análisis molecular de varianza (AMOVA; Excoffier *et al.*, 1992). Para este análisis las localidades

fueron agrupadas en función del tipo de vegetación (selva, manglar o cenote). El AMOVA se realizó con base en F_{ST} y en R_{ST} , y la significancia se probó con 20,000 permutaciones usando ARLEQUÍN.

La estimación del índice F_{ST} puede ser sensible a la presencia de los alelos nulos. Por ello, con el programa FREENA (Chapuis y Estoup, 2007) se calculó la F_{ST} según Weir (1996) por locus sobre todas las localidades y de forma global sobre todos los loci y localidades. Se utilizó el algoritmo de corrección por alelos nulos denominado ENA (Chapuis y Estoup, 2007), y se obtuvo la F_{ST} con y sin el efecto de los alelos nulos y con base en 10,000 réplicas de remuestreos bootstrap sobre todos los loci. Se probó la significancia de la diferencia entre los estimados de F_{ST} con y sin el método ENA con una prueba de T pareada de Student, con el programa SIGMAPLOT 11.0. Para corroborar que estos datos tuvieran distribución normal se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk.

Cuando se utilizan marcadores con altas tasas de mutación, una medida de diferenciación genética útil es la G'_{ST} (Hedrick, 2005b; Jost, 2008; Heller y Siegismond, 2009), la cual se define como la proporción de la máxima diferenciación posible para el nivel de la homocigosidad observada de una subpoblación. Se recomienda el uso de G'_{ST} porque otros estimados, como G_{ST} , no siempre dan una medida confiable de diferenciación entre poblaciones si los marcadores son muy variables, como los microsatélites (Hedrick, 2005b; Jost, 2008).

Para obtener las G'_{ST} considerando la presencia de alelos nulos se utilizó el método descrito por Spear y Storer (2010), que consiste en generar una base de genotipos máximamente diferenciados por medio del programa RECODEDATA (Meirmans, 2006), a partir de los genotipos observados. Posteriormente, los genotipos máximamente diferenciados se analizaron con el programa FREENA, para obtener las F_{ST} entre localidades corregidas por el método ENA, con 10,000 réplicas de remuestreos bootstrap. Finalmente, se calcularon las G'_{ST} entre localidades, dividiendo las F_{ST} pareadas corregidas por alelos nulos provenientes de los genotipos observados entre las F_{ST} pareadas corregidas provenientes de los genotipos máximamente diferenciados.

También se calculó la distancia genética de Cavalli-Sforza y Edwards (1967) entre pares de localidades, la cual se recomienda para microsatélites. Para su estimación sin el efecto de alelos nulos se usó el programa FREENA para generar

genotipos corregidos por alelos nulos, por medio del algoritmo INA (Chapuis y Estoup, 2007). Con los genotipos corregidos se obtuvo la distancia genética con el programa GENECLASS 2 (Piry *et al.*, 2004). Posteriormente se obtuvo la distancia de Cavalli-Sforza y Edwards de la misma manera con los genotipos no corregidos por INA y se probó la significancia de la diferencia con y sin los genotipos corregidos por medio de una prueba de T pareada de Student con SIGMAPLOT. Para determinar la normalidad de estos datos se usó la prueba de Shapiro-Wilk.

5.4.6 Asignación de individuos

Es posible inferir la población de origen de los individuos a partir de los genotipos que presentan múltiples loci (Paetkau *et al.*, 1995). Para evaluar si podía darse el caso de que individuos capturados en una población (e.g. cenote) pertenecieran –o tuvieran su origen– en otra población (e.g. manglar), se efectuó una prueba de asignación de todos los individuos considerando a las localidades de muestreo como las poblaciones, con el programa GENECLASS 2.0. Se usó un método basado en frecuencias alélicas (Paetkau *et al.*, 1995) con una frecuencia de alelos perdidos de 0.01; para obtener la probabilidad de pertenencia de los individuos a las diferentes localidades se usó un remuestreo Monte Carlo para obtener genotipos simulados por medio del algoritmo de Paetkau *et al.* (2004), con 100,000 individuos con un valor de error tipo I de 0.05.

5.4.7 Aislamiento por distancia

En una población donde los apareamientos ocurren preferentemente entre individuos geográficamente cercanos, puede producirse *aislamiento por distancia*, en donde los individuos o poblaciones más próximos tienen más similitud genética que aquellos que están más distantes (Guillot *et al.*, 2009). Una de las evidencias de aislamiento por distancia es la correlación positiva significativa entre las distancias genéticas y las distancias geográficas entre poblaciones. Para evaluar esta correlación se realizó una prueba de Mantel. La distancia geográfica euclidiana entre las localidades de muestreo se estimó con base en las coordenadas centrales de cada sitio de muestreo con el programa ILWIS OPEN v. 3.6.01, valores que posteriormente se convirtieron a kilómetros. Además, se utilizó la distancia genética no sesgada de Nei (1978) estimada entre

localidades. Se evaluaron dos hipótesis nulas: si $r \geq 0$ y si $r \leq 0$, donde r es el coeficiente de correlación, para probar correlaciones tanto positivas como negativas, en el programa IBDS (Isolation by Distance Web Service) v. 3.15 (Jensen *et al.*, 2005) con 30,000 aleatorizaciones.

5.4.8 Análisis de parentesco

La información genética proveniente del uso de microsatélites permite inferir estadísticamente las relaciones de parentesco que hay entre los individuos de una población (Queller y Goodnight, 1989; Weir *et al.*, 2006). Para ello se utilizó un método basado en máxima verosimilitud entre todos los pares posibles de individuos de *A. jamaicensis*, tomando a toda la Isla Cozumel como una sola población. Este método está implementado en el programa ML-RELATE (Kalinowski *et al.*, 2006) y toma en cuenta los alelos nulos. El programa considera cuatro tipos de relación de parentesco: no relacionados, hermanos completos, medios hermanos y padre-hijo. Para corroborar si el patrón de parentesco observado en toda la isla se presentaba también a nivel local, se hizo un análisis separado para la localidad SMC, por tener el mayor tamaño de muestra. Una vez obtenidas las proporciones de cada tipo de relación de parentesco respecto al número total de pares, se calculó el valor promedio del coeficiente de parentesco F (Hartl y Clark, 2006; Weir *et al.*, 2006); para hacerlo, se consideró el valor de F que hay entre dos medios hermanos (0.125), entre dos hermanos completos (0.25) y entre padre – hijo (0.25); estos valores se multiplicaron por el número total de pares obtenidos de cada relación y esos productos se promediaron sobre el número total de pares de individuos presentes en toda la Isla Cozumel. Este mismo procedimiento se llevó a cabo por separado, con los individuos de SMC.

5.4.9 Agrupación de individuos

Existen métodos para inferir agrupaciones de individuos en poblaciones (*clusters*) tomando en cuenta sólo los genotipos, lo que permite estimar el número de poblaciones posibles (genéticas) en una región de estudio (Guillot *et al.*, 2009); algunos de estos métodos toman en cuenta además la información espacial de los genotipos, con el fin de inferir la presencia de barreras al flujo génico entre poblaciones y localizar

espacialmente tanto esa barrera como cada una de las poblaciones (Dupanloup *et al.*, 2002; Guillot *et al.*, 2005a, 2005b, 2009). Para estimar el número posible de clusters en Cozumel, se utilizó el programa GENELAND v. 3.1.5 (Guillot *et al.*, 2005b), el cual funciona dentro del paquete estadístico R (R Development Core Team, 2009). Para este análisis se excluyeron las localidades SMF, PS y MCC, porque presentan tamaños de muestra pequeños, de modo que se fijó el número máximo de poblaciones (K) en 8. Se realizaron 10 corridas independientes de 1 millón de iteraciones cada una con un *thinning* de 100; todas las corridas se realizaron con el modelo de frecuencias alélicas correlacionadas (Falush *et al.*, 2003), el modelo espacial verdadero (Guillot *et al.*, 2005a) y el modelo de alelos nulos verdadero (Guillot *et al.*, 2008). Dada la alta movilidad de los murciélagos y que no se puede considerar la coordenada donde se muestreó como una ubicación fija, todas las corridas se efectuaron con un nivel de incertidumbre de coordenadas de 1 (Guillot *et al.*, 2010).

6. RESULTADOS

Se colectaron 115 murciélagos, de los cuales 100 fueron identificados como *Artibeus jamaicensis*. En la localidad MCIP (Tabla 3), sólo se capturó un individuo, por lo que dicha localidad se excluyó del estudio. Se capturaron siete individuos que no fue posible diferenciar de la especie *A. intermedius*, ya que poseían caracteres fenotípicos mezclados de las dos especies, las cuales son confundibles; a estos individuos se les denominó *Artibeus afinidad jamaicensis*. Para posteriores análisis, se colectaron ocho individuos identificados de inicio como *A. intermedius*. Para estimar la probabilidad de similitud de los siete individuos a una u otra especie, se hizo una prueba de asignación con GENECLASS 2.0. Se usó el método basado en frecuencias de Paetkau et al. (1995) como descrito en los métodos. De los siete *A. afinidad jamaicensis*, cinco tuvieron mayor probabilidad de pertenecer a *A. jamaicensis* (71.4%), por lo que fueron incluidos en todos los análisis (Tabla 2), de manera que el número total de individuos analizados fue de 104. De éstos, 58 fueron hembras y 46 machos y el número mínimo de individuos colectados por sitio fue de uno y el número máximo fue de 19 (Tabla 3; Figura 1).

6.1 Stuttering y alelos nulos

No se detectaron casos de dominancia de alelos pequeños ni errores por *stuttering* en ninguna de las localidades para ningún locus. No obstante, sí se detectaron alelos nulos en varios loci. El locus AjA40 fue el único que no presentó alelos nulos, mientras que AjB464 los presentó para todas las localidades.

Tabla 2. Probabilidad de pertenencia a las especies *Artibeus intermedius* o *Artibeus jamaicensis* de cada individuo colectado denominado como *Artibeus afinidad jamaicensis* (los números de cada individuo son el identificador individual de cada uno).

Individuo <i>Artibeus afinidad jamaicensis</i> asignado	<i>Artibeus intermedius</i>	<i>Artibeus jamaicensis</i>
	Probabilidad de pertenencia	Probabilidad de pertenencia
51 ¹	0.00158	0.07713
65	0.34833	0.91562
92	0.06666	0.20321
101	0.13811	0.00914
102	0.00074	0
109	0.09230	0.36635
115	0.09102	0.21777

¹En negritas aquellos individuos que tuvieron mayor probabilidad de pertenecer a la especie *Artibeus jamaicensis*, y que por ende fueron incluidos en los análisis genéticos.

Tabla 3. Número de individuos *Artibeus jamaicensis* colectados por sitio de muestreo (incluyendo a los *Artibeus afinidad jamaicensis* con mayor probabilidad de pertenecer a *A. jamaicensis*).

Sitio	Número individuos
<u>SELVAS</u>	
Selva Mediana las Fincas (SMF)	4
Selva Planta de Tratamiento de San Miguelito (SPSM)	5
Selva Mediana Las Palmas (SMP)	12
Selva mediana El Cedral (SMC)	19
<u>MANGLARES</u>	
Manglar Camino de Caballos (MCC)	2
Manglar Punta Sur (PS)	4
Manglar Transversal (MT)	7
Manglar camino a Isla de la Pasión (MCIP)	1
<u>CENOTES</u>	
Cenote H (CH)	13
Cenote el Aerolito (Aer)	12
Cenotitos (Cenot)	14
Cenote casa de Luis Echeverría (CEch)	12

6.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento

Sólo hubo siete casos (11%) significativos para desequilibrio de HW después de la corrección de Bonferroni secuencial: la localidad SMC para los loci AjA123, AjB464 y AjA84; CEch para el locus AjA84; Cenot para el locus AjB464 y SMP para los loci AjA123 y AjA151. Todos los casos de desequilibrio se debieron a un exceso de homocigotos (v. Anexos).

Tres loci (AjB464, AjA84 y AjA123) presentaron desequilibrio considerando todas las localidades, y 3 localidades tuvieron equilibrio, al considerar todos los loci. Finalmente, ningún par de loci mostró tener desequilibrio de ligamiento significativo al considerar todas las localidades.

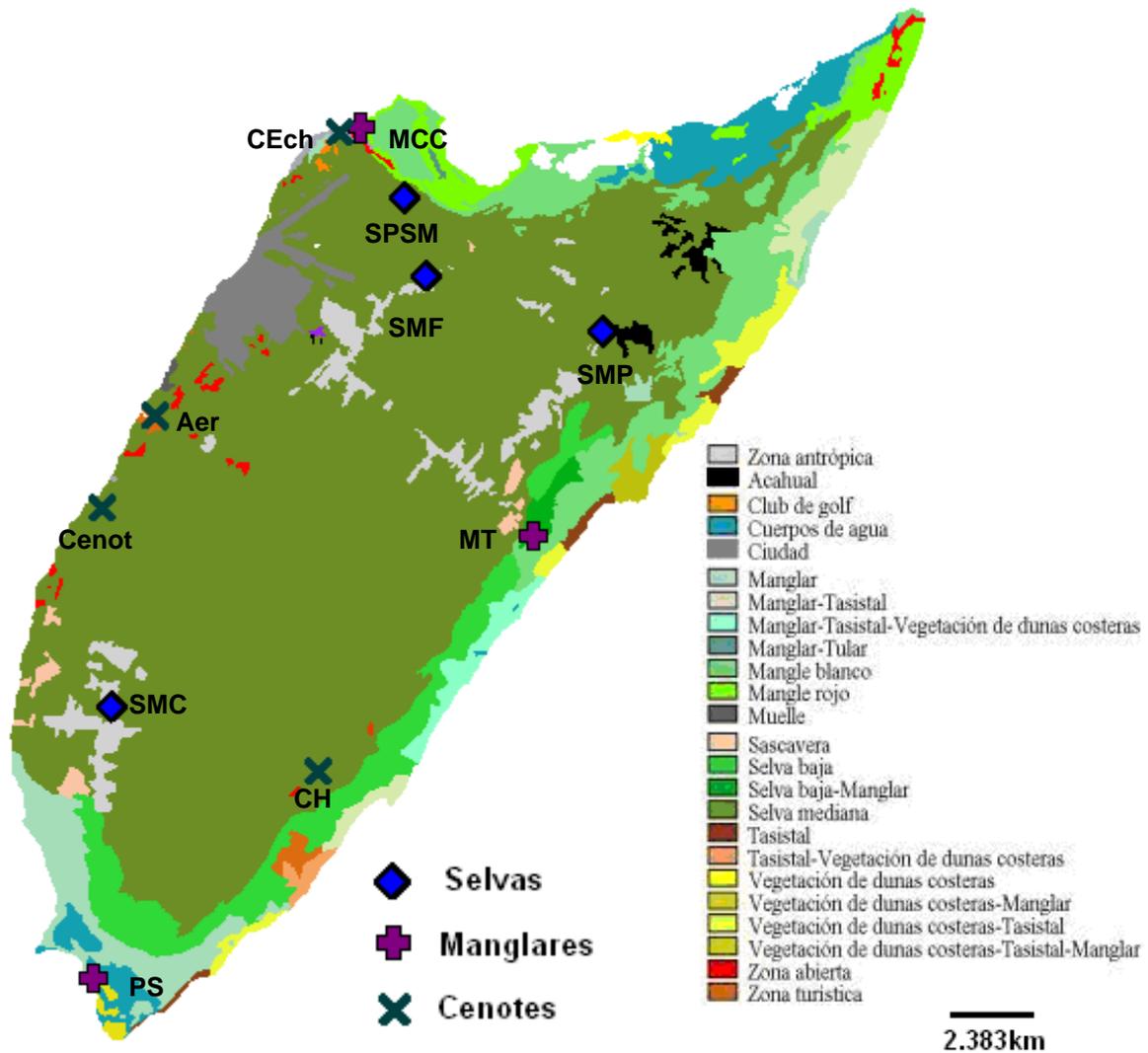


Figura 1. Mapa de Isla Cozumel con cobertura vegetal y todas las localidades por tipo de vegetación; sólo incluye a las localidades analizadas. Se indica la abreviatura de cada localidad (ver Tabla 3). Mapa elaborado usando el programa ILWIS OPEN v. 3.6.01 Modificado de Romero-Nájera (2004).

6.3 Diversidad genética

Por tipo de vegetación, los manglares tuvieron la mayor H_o promedio (0.702), para la H_e de Levene, las selvas tuvieron el mayor promedio (0.890), mientras que, para la H_e de Nei, se encontró el mayor promedio en los cenotes (0.847) (Tabla 4). Se encontraron en total 113 alelos. El locus AjA84 tuvo el mayor número de alelos observados en toda la isla (29) mientras que AjA123 tuvo el menor (13). Por tipo de vegetación, los cenotes tuvieron el mayor promedio de alelos observados (≈ 10) (Tabla 4). En total se encontraron 20 alelos privados (v. Anexos).

6.4 Diferenciación poblacional

Los loci AjA185, AjA84 y AjB464 presentaron diferenciación alélica significativa para todas las localidades. En cuanto a diferenciación alélica entre localidades con todos los loci en conjunto, 9 de las 55 comparaciones posibles fueron significativas.

El locus AjA185 fue el único que presentó diferenciación genotípica significativa, al considerar todas las comparaciones, mientras que ningún par de localidades presentó diferenciación genotípica al considerar todos los loci.

6.5 Estructura genética y diferenciación

Todos los valores de F_{IS} , excepto en AjA40, fueron positivos, lo que indica un exceso de homocigotos; los valores más altos se observan en AjB464, AjA84 y AjA123 (v. Anexos). Los valores de F_{ST} fueron negativos en 4 loci, mientras que el valor más alto de F_{ST} se observó en AjA185 (0.0248). Los valores de F_{IT} fueron positivos en todos los loci excepto en AjA40, mientras que el valor más alto se observó en AjB464.

La localidad MCC tuvo los valores de distancia genética de Nei más elevados (Tabla 5). Si se excluye a MCC, la localidad más divergente fue PS. De hecho, todas las distancias genéticas más altas de cada localidad fueron con PS, excepto el caso de SPSM. Los valores más bajos los tuvieron varios pares de localidades con Cenot y SMC.

Tabla 4. Tamaño de muestra (N), valores promedio de heterocigosidad esperada según Levene (1949) (He) y según Nei (1973) (He_{Nei}) y heterocigosidad observada (Ho); número de alelos observados (Na), número efectivo (Ne) y número de alelos privados por cada localidad.

LOCALIDAD	N	Na	Ne	Ho	He_{Nei}	He	Alelos privados ¹
SELVAS							
SMF	4	5.667	4.978	0.833	0.781	0.893	0.167
SPSM	5	6.333	5.219	0.633	0.803	0.893	0
SMP	12	10.500	7.167	0.639	0.856	0.894	0.833
SMC	19	12.667	8.141	0.667	0.859	0.882	0.5
Promedio		8.792	6.376	0.693	0.825	0.890	
MANGLARES							
MCC	2	3.000	2.833	0.750	0.563	0.750	0
PS	4	4.833	4.154	0.667	0.745	0.851	0.167
MT	7	7.500	5.775	0.690	0.821	0.885	0.167
Promedio		5.111	4.254	0.702	0.710	0.829	
CENOTES							
CH	13	9.833	6.559	0.718	0.832	0.866	0.167
Aer	12	9.833	7.163	0.722	0.845	0.882	0.833
Cenot	14	10.833	7.720	0.702	0.868	0.900	0
Cech	12	9.333	7.079	0.639	0.843	0.880	0.5
Promedio		9.958	7.130	0.695	0.847	0.882	
Promedio total	9.455	8.212	6.072	0.696	0.802	0.870	0.303

¹Promedio del número de alelos privados en cada localidad sobre todos los loci.

No hubo correlación significativa entre las distancias genéticas de Nei y las distancias geográficas entre localidades ($Z = 422.5838$, $r = 0.2281$; para $r \geq 0$, $P = 0.8853$ y para $r \leq 0$, $P = 0.1147$) (Figura 2).

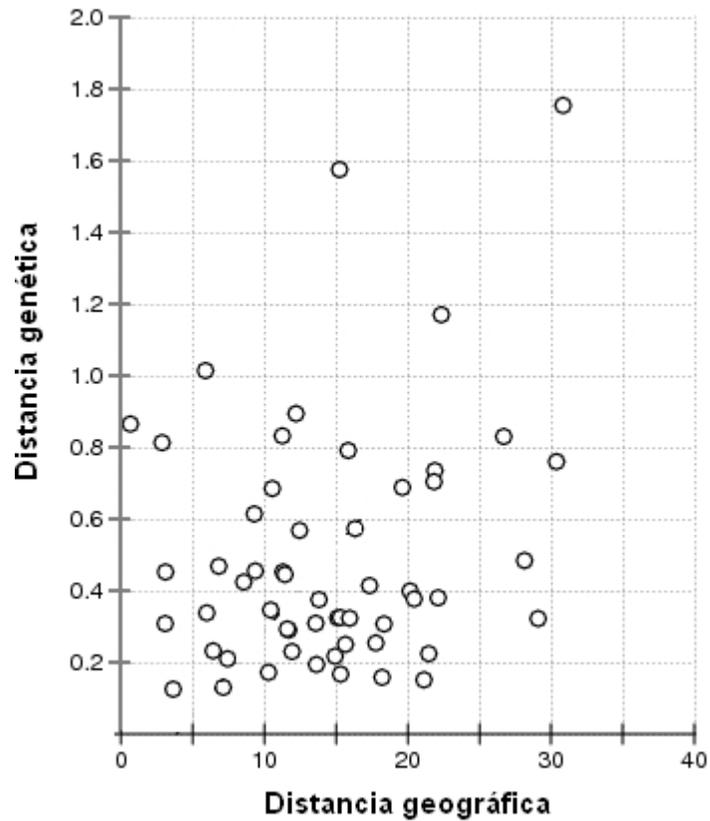


Figura 2. Análisis de correlación entre las distancias genéticas y distancias geográficas entre las 11 localidades de la Isla Cozumel. La distancia genética es la no sesgada de Nei (1978); distancias geográficas en kilómetros.

Tabla 5. Matriz de distancias genéticas no sesgadas de Nei (1978) (debajo de la diagonal) y de distancias geográficas (en kilómetros, arriba de la diagonal) entre pares de localidades.

LOCALIDAD	SMF	CH	MCC	SPSM	Aer	SMP	PS	MT	Cenot	CEch	SMC
SMF	-	17.339	5.89	3.105	10.437	6.424	26.698	9.366	13.634	5.979	18.34
CH	0.414	-	22.344	20.163	13.586	17.773	10.551	11.293	11.928	22.119	7.434
MCC	1.014	1.170	-	2.864	12.207	11.25	30.834	15.244	15.844	0.654	21.892
SPSM	0.452	0.399	0.813	-	11.434	8.56	29.096	12.457	14.93	3.08	20.448
Aer	0.345	0.309	0.894	0.445	-	15.653	19.624	13.807	3.635	11.69	10.287
SMP	0.232	0.254	0.832	0.424	0.250	-	28.15	6.818	18.21	11.599	21.133
PS	0.830	0.685	1.754	0.322	0.688	0.484	-	21.834	16.327	30.381	9.296
MT	0.455	0.452	1.575	0.568	0.375	0.468	0.704	-	15.121	15.298	15.949
Cenot	0.194	0.230	0.791	0.217	0.125	0.158	0.573	0.324	-	15.312	7.13
CEch	0.338	0.380	0.865	0.308	0.290	0.293	0.760	0.325	0.167	-	21.467
SMC	0.307	0.210	0.735	0.377	0.172	0.151	0.614	0.323	0.130	0.224	-

El valor de F_{ST} más alto fue de 0.151 (entre MCC y PS), mientras que el de R_{ST} fue de 0.370 (entre MCC y SPSM) y ambos estimados no fueron significativos después de la corrección de Bonferroni. El número de migrantes entre localidades basado en F_{ST} varió de 2.8 (entre MCC y PS) a 26,380 (entre Cenot y SMP), mientras que para R_{ST} varió de 0.8 (entre SPSM y MCC) a 373 (entre SMC y MCC), sin embargo varios valores fueron infinitos en virtud de los valores negativos de F_{ST} y R_{ST} para esos casos.

El AMOVA basado en F_{ST} mostró que el 98.3% de la variación genética se encuentra dentro de las localidades, el 1.9% se encuentra entre localidades dentro del tipo de vegetación y el 0% se encuentra entre diferentes tipos de vegetación y ningún nivel de variación fue significativo. El AMOVA basado en R_{ST} mostró a su vez que el 95.7% de la variación se encuentra dentro de las localidades, siendo significativa; el 6.3% se distribuye significativamente entre localidades dentro del tipo de vegetación, y el 0% se distribuye entre diferentes tipos de vegetación.

Los valores de F_{ST} con y sin corrección de ENA no fueron significativamente diferentes ($T = -1.892$, g.l. = 5, $P = 0.117$), y tuvieron una distribución normal ($P = 0.131$).

Los valores de G'_{ST} variaron de -0.2 (entre SPSM y Cenot) a 0.8 (entre MCC y PS). El valor más alto de G'_{ST} se observó en MCC. Excluyendo a MCC, todas las localidades tuvieron el mayor valor de G'_{ST} respecto a PS, excepto SPSM y SMP (Tabla 6), mientras que las comparaciones con Cenot fueron las de valores menores de G'_{ST} (Tabla 6).

Las distancias genéticas de Cavalli-Sforza y Edwards calculadas con los genotipos corregidos para alelos nulos fueron significativamente diferentes de las distancias calculadas con los genotipos no corregidos ($T = -2.625$, g.l. = 54, $P = 0.011$) y presentaron distribución normal ($P = 0.220$). Los valores oscilaron de 0.4 (entre Cenot-SMC) a 0.8 (entre MCC-PS). Las localidades más divergentes nuevamente fueron MCC y PS y en tercer lugar, SMF, y, la localidad menos divergente fue SMC.

Tabla 6. Valores de G'_{sr} entre localidades, obtenidos siguiendo el método de Spear y Storfer (2010) (debajo de la diagonal). Valores de distancias genéticas de Cavalli-Sforza y Edwards corregidas para alelos nulos con el método de corrección de INA (Chapuis y Estoup, 2007) (arriba de la diagonal).

	SMF	CH	MCC	SPSM	Aer	SMP	PS	MT	Cenot	CEch	SMC
SMF	0	0.541	0.754	0.619	0.582	0.552	0.701	0.623	0.543	0.583	0.534
CH	0.100	0	0.740	0.507	0.509	0.467	0.619	0.521	0.410	0.515	0.398
MCC	0.562	0.649	0	0.722	0.706	0.705	0.818	0.775	0.688	0.661	0.675
SPSM	-0.068	0.063	0.478	0	0.554	0.506	0.563	0.561	0.461	0.518	0.491
Aer	0.002	0.119	0.491	0.020	0	0.513	0.645	0.537	0.414	0.528	0.426
SMP	-0.123	0.079	0.500	0.036	0.089	0	0.613	0.554	0.419	0.483	0.425
PS	0.275	0.315	0.799	-0.184	0.295	0.108	0	0.622	0.589	0.667	0.608
MT	0.015	0.156	0.753	0.096	0.086	0.174	0.270	0	0.489	0.515	0.455
Cenot	-0.146	0.056	0.479	-0.249	-0.086	-0.091	0.160	0.020	0	0.440	0.373
CEch	-0.016	0.190	0.537	-0.114	0.086	0.098	0.344	0.010	-0.044	0	0.462
SMC	0.026	0.041	0.473	-0.0005	0.011	0.006	0.279	0.062	-0.028	0.049	0

6.6 Asignación de individuos, parentesco y agrupación de individuos

Sólo 16 de los 104 individuos tuvieron las mayores probabilidades de haberse originado en la localidad donde fueron muestreados. De las 11 localidades, SMC fue la que tuvo el mayor porcentaje de individuos correctamente asignados, con 26.3%. Además, de los murciélagos capturados en las selvas, 21 (52.5%) no fueron originarios de éstas, mientras que, de los murciélagos capturados en los cenotes, 29 (56.9%) no fueron originarios de los cenotes y, de los murciélagos capturados en los manglares, 11 (84.6%) no fueron originarios de los manglares.

De los 5356 pares de individuos de *A. jamaicensis*, se encontró que el 85.9% no tienen alguna relación de parentesco, el 0.28% (15 pares) son padre-hijo; el 1.1% (57 pares) son hermanos completos y el 12.7% (682 pares) guardan una relación de medios hermanos (v. Anexos). El valor promedio de F para toda la Isla Cozumel fue de 0.0193. Dentro de SMC, de los 171 pares posibles que tiene, el 94.7% (162 pares) no están relacionados, 4.7% (8 pares) son medios hermanos y sólo un par son padre-hijo, mientras que su valor promedio de F fue de 0.0073.

GENELAND mostró en todas las corridas independientes que todos los individuos se agruparon en un solo cluster en la Isla Cozumel.

7. DISCUSIÓN

De acuerdo con la prueba de asignación, se encontró que el 71% de los individuos *Artibeus afinidad jamaicensis* fueron asignados a *A. jamaicensis*. Cabe mencionar que existe la posibilidad de sesgo en los resultados, debido a que en la prueba se usaron 8 individuos de *A. intermedius* y 99 de *A. jamaicensis*; sin embargo, el sesgo sería hacia una identificación errónea de los asignados como *A. intermedius*. Es decir, dado que la población de referencia *A. jamaicensis*, que es a la que interesaba tener certidumbre de asignación, tuvo un tamaño de muestra adecuado, ello permitió tener valor estadístico ($P \leq 0.05$) alto en la probabilidad de que los individuos asignados como *A. jamaicensis* sean efectivamente dicha especie.

7.1 Diversidad genética

Los resultados mostraron una frecuencia alta de alelos nulos; son varios los factores que propician la presencia de alelos nulos en los microsatélites. Por ejemplo, la alta tasa de mutación de las regiones flanqueantes, ya que se ha sugerido que estas secuencias son inestables por estar asociadas a los microsatélites (Callen *et al.*, 1993; Grimaldi y Crouau-Roy, 1997; Chapuis y Estoup, 2007). Otra posible causa es la divergencia genética que puede existir en las regiones flanqueantes entre la población a partir de la cual se diseñaron los primers para la especie y la población que se genotipifica (Dakin y Avise, 2004; Chapuis y Estoup, 2007). Sin embargo, se sabe que *A. jamaicensis* puede mantener niveles significativos de flujo génico entre poblaciones distantes (Pumo *et al.*, 1988; Carstens *et al.*, 2004; Fleming *et al.*, 2010), por lo que es más probable que los alelos nulos hayan resultado del alto polimorfismo inherente de las regiones flanqueantes, independiente del flujo génico entre la isla Cozumel y las poblaciones de Yucatán, de donde se obtuvieron los primers para *A. jamaicensis* (Ortega *et al.*, 2002). Por tratarse de una población isleña, otro factor al cual puede atribuírsele la presencia de los alelos nulos es el cuello de botella asociado al efecto fundador que se pudo haber presentado cuando *A. jamaicensis* colonizó la isla (Abdelkrim *et al.* 2005; Allendorf y Luikart, 2007). Los individuos fundadores debieron portar alelos cuyas regiones flanqueantes no habrían permitido el alineamiento de los primers diseñados para *A. jamaicensis* en una PCR. Un cuello de botella provoca que

aquellos alelos con una frecuencia baja en la población original se pierdan con una mayor probabilidad, dependiendo del tamaño poblacional después del cuello de botella (Allendorf, 1986). Es posible que el tamaño de la población fundadora de *A. jamaicensis*, o la frecuencia de los alelos nulos en la población original, hayan sido tales que permitieran la predominancia de alelos nulos en Isla Cozumel, frente a los alelos amplificables con los primers diseñados; la posterior llegada de migrantes a la isla probablemente promovió un aumento de la frecuencia de alelos amplificables.

El efecto más problemático de los alelos nulos es la sobreestimación de la diferenciación genética, dado que pueden disminuir el valor de diversidad promedio dentro de las poblaciones. Si el flujo génico es bajo, el sesgo en la diferenciación producido por los alelos nulos será mayor (Chapuis y Estoup, 2007). Los resultados de este trabajo muestran baja estructura genética entre localidades (ver más adelante), lo cual sugiere que aquellos estimados de diferenciación no corregidos para los alelos nulos (F_{ST} , R_{ST} , distancias de Nei) no tienen sesgos.

La población de *A. jamaicensis* en isla Cozumel mostró valores de diversidad genética altos, con respecto a la heterocigosidad esperada y al número de alelos por locus. La heterocigosidad ($H_e = 0.870$; $H_{NEI} = 0.802$) es comparativamente alta a lo registrado en otros estudios con murciélagos. Fleming y Murray (2009) encontraron que, para *A. jamaicensis* en la isla Gran Caimán, la H_e fue de 0.640 y 0.690, antes y después del huracán Iván, respectivamente. En la isla japonesa de Okinawa–Jima, Yoshino *et al.* (2008) encontraron para *Rhinolophus cornutus pumilus* valores de H_e de 0.790 a 0.850. Finalmente, Rossiter *et al.* (2000) analizaron la diversidad genética de *R. ferrumequinum* en colonias de Gran Bretaña, en donde la H_e abarcó de 0.399 a 0.681. Asimismo, el número máximo de alelos por locus es comparativamente alto: 13 – 29 en este estudio, 11 – 18 en otros trabajos (Rossiter *et al.*, 2000, Salgueiro *et al.*, 2008, Yoshino *et al.*, 2008, Echenique-Díaz *et al.*, 2009). Esta diversidad genética elevada puede atribuirse a varios factores: un flujo génico alto con individuos de la península de Yucatán o con otras islas; y por la alta densidad poblacional en la isla y en muchas de sus poblaciones continentales. Sin embargo, también hay que considerar la dinámica de las poblaciones isleñas: cuando se colonizan, participa un número reducido de individuos fundadores, que son una muestra pequeña de la diversidad genética de una

población fuente, que generalmente es la población continental (Abdelkrim *et al.*, 2005). Esto provoca un decremento drástico en la diversidad genética en esta población fundada, con un consecuente cuello de botella (Abdelkrim *et al.*, 2005), caracterizado por la reducción de la diversidad alélica y del tamaño efectivo de la población, así como por un incremento de la heterocigosidad (Cornuet y Luikart, 1996; Amos y Harwood, 1998; Abdelkrim *et al.*, 2005; Vega *et al.*, 2007). Después de fundarse, la diversidad genética en las poblaciones isleñas se mantiene baja, por sus tamaños poblacionales bajos, donde puede darse endogamia y deriva génica (Frankham, 1997; Vega *et al.*, 2007; Fleming *et al.*, 2010). No obstante, puede haber incremento de la diversidad genética si el tamaño poblacional se mantiene en niveles altos y si hay flujo génico con poblaciones vecinas (Frankham, 1997; Amos y Harwood, 1998; Vega *et al.*, 2007).

7.2 Estructura poblacional y flujo génico

Considerando las características ambientales de Cozumel: alta estacionalidad, más de la mitad del año en condiciones de sequía (con escasa disponibilidad de agua y sólo presente de manera libre en los cenotes), vegetación predominantemente caducifolia; así como, el ciclo reproductivo de *A. jamaicensis* (en el cual los picos de nacimientos de las crías están sujetos a la fenología de los recursos alimentarios) (Steers, 1998; Ortega y Arita, 1999; Ortega y Steers, 2005), uno de los objetivos del estudio fue evaluar si *A. jamaicensis* presentaría estructuración genética. La hipótesis planteada se basó en la información conocida sobre la especie (Flores-Martínez, 1999; Ortega y Arita, 1999; Ortega y Castro-Arellano, 2001; Ortega y Steers, 2005; Ortega *et al.*, 2008) y los resultados mostraron que *A. jamaicensis* en Cozumel no está genéticamente estructurado, de acuerdo con las hipótesis planteadas. Tanto los valores de distancia genética observados de Nei y de Cavalli-Sforza y Edwards entre localidades como los de G'_{ST} mostraron valores bajos (todas las localidades) a moderados (cuando se excluyen las poblaciones con tamaño de muestra pequeño) (Tablas 5 y 6). Asimismo, los valores no significativos de F_{ST} y R_{ST} pareadas y el alto número de migrantes reflejan los altos niveles de flujo génico que presentan los individuos en la isla. Los análisis moleculares de varianza basados en estos dos estimados muestran que la distribución de la variación genética es nula entre tipos de vegetación (localidades),

mientras que el 96-98% se da dentro de las localidades. Tampoco se encontró aislamiento por distancia, todo lo cual hace evidente que el tipo de vegetación no es un factor que promueva diferenciación entre poblaciones de *A. jamaicensis*.

La mayoría de los murciélagos no fueron afines a las localidades donde fueron colectados, pues la prueba de asignación mostró que entre el 50% y el 85% de los individuos colectados no eran originarios del tipo de vegetación donde fueron colectados. Así, estos resultados son evidencia de la alta movilidad de individuos entre los diferentes tipos de vegetación y a lo largo de la isla, lo cual promueve en consecuencia un alto flujo génico. Acorde con esta alta movilidad, el análisis espacial mostró que una sola población o unidad genética está presente en la isla, es decir que los individuos se comportan como una población panmíctica insular.

En cuanto al análisis de parentesco, sólo el 14% de todos los pares de individuos tuvieron relación predominando aquellos de bajo parentesco (medios hermanos, frente a hermanos completos y padre-hijo). Se esperaría que en una isla el parentesco se incrementara en virtud de la tendencia a la endogamia, sin embargo, esto no se observa en *A. jamaicensis*, seguramente por el alto intercambio de individuos dentro de la isla, así como probablemente con otras poblaciones. Sin embargo, hay que resaltar que el método utilizado en este trabajo para inferir las relaciones de parentesco supone que la población analizada no recibe migrantes (Kalinowski *et al.*, 2006). Otro factor que podría promover el escaso parentesco es la ausencia de cuevas en la Isla Cozumel. Lo anterior se traduce en que los harems se establecen en sitios de percha no permanentes (e.g., huecos de troncos o follaje) expuestos a fluctuaciones microclimáticas y a perturbaciones como huracanes o tormentas, por lo que los harems son menos estables y propensos a desintegrarse (Ortega *et al.*, 2008).

Varios factores propician que la población en la isla Cozumel sea panmíctica. *A. jamaicensis* puede encontrarse en varios tipos de hábitat, utiliza una amplia diversidad de sitios de percha y cuenta con un amplio espectro de especies vegetales cuyos frutos consume, además de que puede complementar su dieta con insectos, polen, néctar o flores (Flores-Martínez, 1999; Ortega y Castro-Arellano, 2001; Ortega *et al.*, 2003, 2008). Además, utiliza diferentes sitios de percha como huecos de troncos, follaje y construcciones humanas (Ortega y Arita, 1999; Ortega y Castro-Arellano, 2001; Ortega

y Steers, 2005). Debido a esta poca restricción en la dieta y en los sitios de percha, así como el uso de diferentes hábitat, efectivamente se corrobora la hipótesis de que el tipo de vegetación predominante en isla Cozumel no es un factor de diferenciación genética. Otro factor importante es la amplia vagilidad (Gannon y Willig, 2010); en hábitats productivos la distancia diaria de forrajeo es de 600 m y en hábitats con escasa disponibilidad de frutos es de 8 km en promedio (Morrison, 1978; Ortega y Castro–Arellano, 2001; Ortega *et al.*, 2003). Pero esta especie no sólo exhibe amplia movilidad en una escala local, sino que la dispersión a distancias mayores ha quedado corroborada en varios estudios donde se observan niveles importantes de flujo génico entre poblaciones isleñas en el Caribe separadas por distancias aproximadas de entre 30 y 1400 km, por ejemplo, las islas de las Antillas mayores y menores como La Española, Jamaica, Puerto Rico (Phillips *et al.*, 1991; Fleming *et al.*, 2010), así como Antigua, Barbuda, Barbados, Carriacou, Dominica, Montserrat, Nevis, Saba, San Eustaquio, Saint Kitts, San Martín y San Vicente (Pumo *et al.*, 1988; Phillips *et al.*, 1991; Carstens *et al.*, 2004; Larsen *et al.*, 2007; Fleming *et al.*, 2010).

8. CONCLUSIÓN

La población isleña de *Artibeus jamaicensis* en Isla Cozumel tiene, comparada con trabajos previos con murciélagos, una alta diversidad genética, traducida en un alto número de alelos por locus y en valores relativamente altos de heterocigosidad esperada, probablemente asociado a los diferentes eventos de colonización de la isla y posterior migración de individuos entre islas y con el continente, y la relativa alta densidad poblacional que presenta en Cozumel. Ello es un ejemplo contrario a lo que normalmente se observa en poblaciones insulares.

Los datos sugieren que los individuos de *A. jamaicensis* son una población panmíctica, con valores bajos y no significativos de diferenciación genética, con proporciones bajas de relaciones de parentesco y con la casi total proporción de variación genética presente dentro de las localidades. La no estructuración resultado del tipo de vegetación evaluados está relacionado con la versatilidad que *A. jamaicensis* tiene en la elección de sitios de percha, la diversidad de hábitat que puede ocupar, en la elección de recursos alimentarios y en su alta vagilidad. Se reconoce que el tamaño de muestra de varios sitios en este estudio es bajo, y que indudablemente sería conveniente corroborar lo observado con un mayor esfuerzo de muestreo. Sin embargo, también es de notar que diversos análisis apoyan estos resultados y que muy probablemente se mantendrían los patrones observados.

9. LITERATURA CITADA

- Abdelkrim J., M. Pascal, S. Samadi. 2005. Island colonization and founder effects: the invasion of the Guadeloupe islands by ship rats (*Rattus rattus*). *Molecular Ecology*. 14: 2923 – 2931.
- Allendorf F.W. 1986. Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. *Zoo Biology*. 5: 181 – 190.
- Allendorf F.W., G. Luikart. 2007. *Conservation and the Genetics of populations*. Blackwell Publishing. EE UU. 642 pp.
- Amos W., J. Harwood. 1998. Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Philosophical transactions of the Royal Society of London B*. 353: 177 – 186.
- Awise J.C. 2004. *Molecular markers, natural history and evolution*. 2ª Edición. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, EEUU. 684 pp.
- Balloux F., N. Lugin – Moulin. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11: 155 – 165.
- Burland T.M., J. Worthington – Wilmer. 2001. Seeing in the dark: molecular approaches to the study of bat populations. *Biological reviews*. 76: 389 – 409.
- Callen D.F., A.D. Thompson, Y. Shen, H.A. Phillips, R.I. Richards, J.C. Mulley, G.R. Sutherland. 1993. Incidence and origin of “null” alleles in the (AC)_n microsatellite markers. *American journal of Human Genetics*. 52: 922 – 927.
- Carstens B.C., J. Sullivan, L.M. Davalos, P.A. Larsen, S.C. Pedersen. 2004. Exploring population genetic structure in three species of Lesser Antillean bats. *Molecular Ecology*. 13: 2557 – 2566.
- Castillo – Cobián A. 2007. La selección natural a nivel molecular. In L.E. Eguiarte, V. Souza, X. Aguirre (Eds.). *Ecología molecular*. SEMARNAT – INE – UNAM – CONABIO. México. 594 pp.
- Cavalli-Sforza L.L., A.W.F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis models and estimation procedures. *American journal of Human Genetics*. 19, 3: 233 – 257.
- Ceballos G., Á. Miranda. 2000. *Guía de campo de los mamíferos de la costa de Jalisco, México*. Fundación Ecológica de Cuixmala, A.C. – UNAM. México. 502 pp.
- Cornuet J.M., G. Luikart. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*. 144: 2001 – 2014.
- Cuarón A.D., M.A. Martínez – Morales, K.W. Mc Fadden, D. Valenzuela, M.E. Gompper. 2004. The status of dwarf carnivores on Cozumel Island, Mexico. *Biodiversity and conservation*. 13: 317 – 331.
- Chapuis M.P., A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and evolution*. 24, 3: 621 – 631.
- Dakin E.E., J.C. Awise. 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*. 93: 504 – 509.
- Davis W.B. 1970. The large fruit bats (Genus *Artibeus*) of Middle America, with a review of the *Artibeus jamaicensis* complex. *Journal of Mammalogy*. 51, 1: 105 – 122.
- Dempster A.P., N.M. Laird, D.B. Rubin. 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*. 39, 1: 1 – 38.

- Dupanloup I., S. Schneider, L. Excoffier. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*. 11: 2571 – 2581.
- Echenique-Díaz L.M., J. Yokoyama, O. Takahashi, M. Kawata. 2009. Genetic structure of island populations of the endangered bat *Hipposideros turpis turpis*: implications for conservation. *Population Ecology*. 51: 153 – 160.
- Eisen J.A. 1999. Mechanistic basis for microsatellite instability. In D.B. Goldstein, C. Schlötterer (Eds.). *Microsatellites: Evolution and applications*. Oxford University Press. Nueva York, N.Y., EE UU. 352 pp.
- Engstrom M.D., C.A. Schmidt, J.C. Morales, R.C. Dowler. 1989. Records of mammals from Isla Cozumel, Quintana Roo, México. *The southwestern naturalist*. 34, 3: 413 – 415.
- Estoup A., J.M. Cornuet. 1999. Microsatellite evolution: inferences from population data. In D.B. Goldstein, C. Schlötterer (Eds.). *Microsatellites: Evolution and applications*. Oxford University Press. Nueva York, N.Y., EE UU. 352 pp.
- Excoffier L., P.E. Smouse, J.M. 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, S. Schneider. 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics online*. 1: 47 – 50.
- Falush D., M. Stephens, J. Pritchard. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*. 164: 1567 – 1587.
- Fleming T.H., K.L. Murray. 2009. Population and genetic consequences of hurricanes for three species of West Indian phyllostomid bats. *Biotropica*. 41, 2: 250 – 256.
- Fleming T.H., P.A. Racey. 2010. An introduction to island bats. En T.H. Fleming, P.A. Racey (Eds.). *Island bats. Evolution, Ecology, and conservation*. The University of Chicago Press. Chicago, Illinois, EE UU. 549 pp.
- Fleming T.H., K.L. Murray, B. Carstens. 2010. Phylogeography and genetic structure of three evolutionary lineages of West Indian phyllostomid bats. En T.H. Fleming, P.A. Racey (Eds.). *Island bats. Evolution, Ecology, and conservation*. The University of Chicago Press. Chicago, Illinois, EE UU. 549 pp.
- Flores-Martínez J.J. 1999. Hábito alimentario del murciélago zapotero (*Artibeus jamaicensis*) en Yucatán México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 64 pp.
- Frankham R. 1997. Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity*. 78: 311 – 327.
- Futuyma D.J. 2005. *Evolution*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, EE UU. 603 pp.
- Gannon M.R., M.R. Willig. 2010. Island in the storm: Disturbance Ecology of plant – visiting bats on the hurricane – prone island of Puerto Rico. En T.H. Fleming, P.A. Racey (Eds.). *Island bats. Evolution, Ecology, and conservation*. The University of Chicago Press. Chicago, Illinois, EE UU. 549 pp.
- Gillespie J.H. 2004. *Population Genetics: a concise guide*. 2ª Edición. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland, EE UU. 212 pp.

- González-Baca C.A. 2006. Ecología de forrajeo de *Boa constrictor*. Un depredador introducido a la Isla Cozumel. Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones en Ecosistemas, UNAM. México. 76 pp.
- Goudet J., M. Raymond, T. de Meeüs, F. Rousset. 1996. Testing differentiation in diploid populations. *Genetics*. 144: 1933 – 1940.
- Grimaldi M.C., B. Crouau – Roy. 1997. Microsatellite allelic homoplasmy due to variable flanking sequences. *Journal of molecular evolution*. 44: 336 – 340.
- Guillot G., A. Estoup, F. Mortier, J.F. Cosson. 2005a. A spatial statistical model for Landscape Genetics. *Genetics*. 170: 1261 – 1280.
- Guillot G., F. Mortier, A. Estoup. 2005b. GENELAND: a computer package for Landscape Genetics. *Molecular Ecology Notes*. 5: 712 – 715.
- Guillot G., F. Santos, A. Estoup. 2008. Analysing georeferenced population genetics data with Geneland: a new algorithm to deal with null alleles and a friendly graphical user interface. *Bioinformatics*. 24, 11: 1406 - 1407
- Guillot G., R. Leblois, A. Coulon, A.C. Frantz. 2009. Statistical methods in Spatial Genetics. *Molecular Ecology*. 18: 4734 – 4756.
- Guillot G., F. Santos, A. Estoup. 2010. Population Genetics analysis using R and Geneland. Technical University of Denmark. <http://www2.imm.dtu.dk/~gigu/Geneland/>
- Guo S.W., E.A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy – Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*. 48: 361 – 372.
- Hall E.R. 1981. *The mammals of North America*. 2ª Edición. Vol. I. John Wiley & Sons. EE UU. 690 pp.
- Hamilton M.B. 2009. *Population Genetics*. Wiley – Blackwell. EE UU. 407 pp.
- Hancock J.M. 1999. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. In D.B. Goldstein, C. Schlotterer (Eds.). *Microsatellites: Evolution and applications*. Oxford University Press. Nueva York, N.Y., EE UU. 352 pp.
- Hartl D.L., A.G. Clark. 2006. *Principles of Population Genetics*. Sinauer Associates Inc. Sunderland Massachusetts, EE UU. 545 pp.
- Hedrick P.W. 2005a. *Genetics of populations*. 3ª Edición. Jones and Bartlett Publishers. Sudbury, Massachusetts, EE UU. 737 pp.
- Hedrick P.W. 2005b. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*. 59, 8: 1633 – 1638.
- Heller R., H.R. Siegismund. 2009. Relationship of three measures of genetic differentiation G_{ST} , D_{EST} , G'_{ST} : how wrong have we been?. *Molecular Ecology*. 18: 2080 – 2083.
- Jensen J.L., A.J. Bohonak, S.T. Kelley. 2005. Isolation by distance, web service. *BMC Genetics*. 6, 13: 1 – 6.
- Jones Jr. J.K., T.E. Lawlor. 1965. Mammals from Isla Cozumel, México, with description of a new species of harvest mouse. *University of Kansas publications. Museum of Natural History*. 16, 3: 409 – 419.
- Jost L. 2008. G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*. 17: 4015 – 4026.
- Juste J., R. Bilgin, J. Muñoz, C. Ibáñez. 2009. Mitochondrial DNA signatures at different spatial scales: from the effects of the Straits of Gibraltar to population structure in the meridional serotine bat (*Eptesicus isabellinus*). *Heredity*. 103: 178 – 187.

- Kalinowski S.T., A.P. Wagner, M.L. Taper. 2006. ML – RELATE: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes*. 6: 576 – 579.
- Kerth G. 2008. Causes and consequences of sociality in bats. *BioScience*. 58, 8: 737 – 746.
- Larsen P.A., S.R. Hooper, M.C. Bozeman, S.C. Pedersen, H.H. Genoways, C.J. Phillips, D.E. Pumo, R.J. Baker. 2007. Phylogenetics and Phylogeography of the *Artibeus jamaicensis* complex based on cytochrome-*b* DNA sequences. *Journal of Mammalogy*. 88, 3: 712 – 727.
- Larsen P.A., M.R. Marchán – Rivadeneira, R.J. Baker. 2010a. Natural hybridization generates mammalian lineage with species characteristics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107, 25: 11447 – 11452.
- Larsen P.A., M.R. Marchán – Rivadeneira, R.J. Baker. 2010b. Taxonomic status of Andersen's fruit-eating bat (*Artibeus jamaicensis aequatorialis*) and revised classification of *Artibeus* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Zootaxa*. 2648: 45 – 60.
- Levene H., 1949. On a matching problem arising in Genetics. *The annals of Mathematical Statistics*. 20, 1: 91 – 94.
- Lewin, B. 2008. *Genes IX*. Jones and Bartlett Publishers. Sudbury, Mass, EE UU. 892 pp.
- Li Y.C., A.B. Korol, T. Fahima, A. Beiles, E. Nevo. 2002. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology*. 11: 2453 – 2465.
- Manzo Andrade A., D.A. Estrada Barcenas. 2000. Variación estacional de hábitos alimenticios en *Sturnira liliium* y *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae) mediante el uso de marcadores isotópicos de carbono y nitrógeno. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 53 pp.
- Martínez – Morales M.A. 1996. The Cozumel curassow: abundance, habitat preference and conservation. Tesis de Maestría. Universidad de Cambridge. Reino Unido. 65 pp.
- Matschiner M., W. Salzburger. 2009. TANDEM: integrating automated allele binning into genetics and genomics workflows. *Bioinformatics*. 25, 15: 1982 – 1983.
- Medellín R.A., H.T. Arita, Ó. Sánchez H. 1997. *Identificación de los murciélagos de México*. Asociación Mexicana de Mastozoología, A.C. México. 83 pp.
- Meirmans P.G. 2006. Using the AMOVA framework to estimate a standardized genetic measure differentiation. *Evolution*. 60: 2399 – 2402.
- Miller-Butterworth C.M., D.S. Jacobs, E.H. Harley. 2003. Strong population substructure is correlated with morphology and ecology in a migratory bat. *Nature*. 424: 187 – 191.
- Morrison D.W. 1978. Influence of habitat on the foraging distances of the fruit bat, *Artibeus jamaicensis*. *Journal of Mammalogy*. 59, 3: 622 – 624.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 70, 12: 3321 – 3323.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89: 583 – 590.
- Oliveira E.J., J.G. Pádua, M.I. Zucchi, R.Vencovsky, M.L. Carneiro – Vieira. 2006. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*. 29, 2: 294 – 307.

- van Oosterhout C., W.F. Hutchinson, D.P.M. Wills, P. Shipley. 2004. MICRO – CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*. 4: 535 – 538.
- Ortega J., H.T. Arita. 1999. Structure and social dynamics of harem groups in *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy*. 80, 4: 1173 – 1185.
- Ortega J., I. Castro-Arellano. 2001. *Artibeus jamaicensis*. *Mammalian Species*. 662: 1-9.
- Ortega J., J.E. Maldonado, H.T. Arita, G.S. Wilkinson, R.C. Fleischer. 2002. Characterization of microsatellite loci in the jamaican fruit – eating bat *Artibeus jamaicensis* and cross – species amplification. *Molecular Ecology*. 2: 462 – 464.
- Ortega J., J.E. Maldonado, G.S. Wilkinson, H.T. Arita, R.C. Fleischer. 2003. Male dominance, paternity and relatedness in the Jamaican fruit – eating bat (*Artibeus jamaicensis*). *Molecular Ecology*. 12: 2409 – 2415.
- Ortega J., G. Steers. 2005. *Artibeus jamaicensis* Leach, 1821. En G. Ceballos, G. Oliva (Coords.). *Los mamíferos silvestres de México*. CONABIO – FCE. México. 986 pp.
- Ortega J., J.A. Guerrero, J.E. Maldonado. 2008. Agression and tolerance by dominant males of *Artibeus jamaicensis*: strategies to maximize fitness in harem groups. *Journal of Mammalogy*. 89, 6: 1372 – 1378.
- Paetkau D., W. Calbert, I. Stirling, C. Strobeck. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology*. 4: 347 – 354.
- Paetkau D., R. Slade, M. Burden, A. Estoup. 2004. Genetic assignment methods for the direct, real – time estimation of migration rate: a simulation – based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology*. 13: 55 – 65.
- Peakall R., P.E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6: 288 – 295.
- Phillips C.J., D. E. Pumo, H.H. Genoways, P.E. Ray, C.A. Briskey. 1991. En M.A. Mares D.J. Schmidly. *Latin American Mammalogy. History, biodiversity and conservation*. University of Oklahoma Press : Norman and London. 468 pp.
- Piry S., A. Alapetite, J.M. Cornuet, D. Paetkau, L. Badouin, A. Estoup. 2004. GENECLASS2: A software for genetic assignment and first – generation migrant detection. *Journal of heredity*. 95, 6: 536 – 539.
- Pumo D.E., E.Z. Goldin, B. Elliot, C.J. Phillips, H.H. Genoways. 1988. Mitochondrial DNA polymorphism in three Antillean island populations of the fruit bat, *Artibeus jamaicensis*. *Molecular Biology and evolution*. 5, 1: 79 – 89.
- Queller D.C., K.F. Goodnight. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*. 43, 2: 258 – 275.
- R Development Core Team. 2009. R: A language and environment for statistical computing. <http://www.R-project.org>
- Redondo R.A.F., L.P.S. Brina, R.F. Silva, A.D. Ditchfield, F.R. Santos. Molecular Systematics of the genus *Artibeus* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Molecular Phylogenetics and evolution*. 49: 44 – 58.
- Reid F.A. 1997. *A field guide to the mammals of Central America and southeast Mexico*. Oxford University Press. Nueva York, N.Y., EE UU. 334 pp.
- Rice W.R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*. 43, 1: 223 – 225.

- di Rienzo A., A.C. Peterson, J.C. Garza, A.M. Valdes, M. Slatkin, N.B. Freimer. 1994. Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 91: 3166 – 3170.
- Romero-Nájera I. 2004. Distribución, abundancia y uso de hábitat de *Boa constrictor* introducida a la Isla Cozumel. Tesis de Maestría. UNAM. México. 47 pp.
- Rossiter S.J., G. Jones, R.D. Ransome, E.M. Barratt. 2000. Genetic variation and population structure in the endangered greater horseshoe bat *Rhinolophus ferrumequinum*. *Molecular Ecology*. 9: 1131 – 1135.
- Rousset F. 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*. 8: 103 – 106.
- Salgueiro P, J.M. Palmeirim, M. Ruedi, M.M. Coelho. 2008. Gene flow and population structure of the endemic Azorean bat (*Nyctalus azoreum*) based on microsatellites: implications for conservation. *Conservation Genetics*. 9: 1163 – 1171.
- Schlötterer C., T. Wiehe. Microsatellites, a neutral marker to infer selective sweeps. In D.B. Goldstein, C. Schlötterer (Eds.). *Microsatellites: Evolution and applications*. Oxford University Press. Nueva York, N.Y., EE UU. 352 pp.
- Sears K.E., R.R. Behringer, J.J. Rasweiler IV, L.A. Niswander. 2006. Development of bat flight : Morphologic and molecular evolution of bat wing digits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 103, 17: 6581 – 6586.
- Selkoe K.A., R.J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology letters*. 9: 615 – 629.
- Simmons N.B. 2005. Order Chiroptera. En D.E. Wilson, D.M. Reeder. *Mammal species of the world*. 3ª Edición. Vol. 1. The John Hopkins University Press. Baltimore, Maryland, EE UU. 743 pp.
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*. 139: 457 – 462.
- Spear S.F., A. Storfer. 2010. Anthropogenic and natural disturbance lead to differing patterns of gene flow in the Rocky Mountain tailed frog, *Ascaphus montanus*. *Biological conservation*. 143: 778 – 786.
- Steers Bedolla, G. 1998. Descripción morfológica e histológica del aparato reproductor femenino y citología vaginal exfoliativa del murciélago *Artibeus jamaicensis yucatanicus* y la relación con su ciclo reproductivo en Yucatán, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México, 77 pp.
- Suárez-Atilano, M.A. 2009. Genética de poblaciones de *Boa constrictor* (Serpentes: Boidae) en la Isla Cozumel, Quintana Roo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. 81 pp.
- Vega R., E. Vázquez-Domínguez, A. Mejía-Puente, A.D. Cuarón. 2007. Unexpected high levels of genetic variability and the population structure of an island endemic rodent (*Oryzomys couesi cozumelae*). *Biological Conservation*. 137: 210 – 222.
- Vignal A., D. Milan, M. SanCristobal, A. Eggen. 2002. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in Animal Genetics. *Genetics selection and evolution*. 34: 275 – 305.
- Yeh F.C., R. Yang, T. Boyle. 1999. POPGENE Versión 1.31. Microsoft Windows – based Freeware for Population Genetic Analysis. University of Alberta, Canadá.
- Yoshino H., K.N. Armstrong, M. Izawa, J. Yokoyama, M. Kawata. 2008. Genetic and acoustic population structuring in the Okinawa least horseshoe bat: are

- intercolony acoustic differences maintained by vertical maternal transmission?
Molecular Ecology. 17: 4978 – 4991.
- Wayne M.L., M.M. Miyamoto. 2006. Genetic variation. In C.W. Fox, J.B. Wolf (Eds.).
Evolutionary Genetics. Oxford University Press. EE UU. 592 pp.
- Weir B.S., C.C. Cockerham. 1984. Estimating F -Statistics for the analysis of population
structure. *Evolution*. 38, 6: 1358 – 1370.
- Weir B.S., A.D. Anderson, A.B. Hepler. 2006. Genetic relatedness analysis: modern
data and new challenges. *Nature Reviews Genetics*. 7: 771 – 780.
- Wright S. 1931. Evolution in mendelian populations. *Genetics*. 16: 97 – 159.

ANEXOS

ANEXO 1. Protocolo de extracción de ADN

Se siguió este protocolo modificado para extraer el ADN de todas las muestras de membrana alar en *Artibeus jamaicensis*, basado en el kit de extracción QuickGene DNA tissue kit S – Mini 80 de FUJI FILM Life Science.

I.- Disección de tejido

1. Colocar una muestra de tejido de membrana alar en un pedazo de papel aluminio. Exprimirlo un poco sobre el aluminio para quitar el exceso de etanol. Después, secar el tejido en una sanita lo más que se pueda.
2. Medir las muestras de tejido usando una regla graduada lavada con etanol al 70% (v/v). Si la muestra es muy grande, cortar con un bisturí lavado con etanol al 70% sobre el aluminio pedazos de entre 1 y 3mm de longitud y de un grosor de ~ 2mm.
3. Meter las muestras en tubos eppendorf de 1.5 mL previamente esterilizados en autoclave y rotulados.

II.- Lisis de tejido

4. A las muestras que miden entre 1.5 y 3mm (muestras grandes) añadir a cada una 60 μ L de la **solución de lisis MDT** del kit; para muestras que miden <1.5 mm (muestras pequeñas), añadir 50 μ L de MDT.
5. A las muestras con 60 μ L de MDT, añadir 10 μ L de **proteínasa K EDT**. A los que tienen 50, añadir 8 μ L de EDT. Vortexear los tubos unos segundos.
6. Incubar en un termoblock a 55°C de preferencia toda la noche. Si es posible, vortexear los tubos durante la incubación periódicamente. Al terminar la incubación, vortexear nuevamente los tubos; se puede continuar con los pasos siguientes si quedan restos pardos transparentes de tejidos en los tubos o si el líquido se ve turbio.
7. Centrifugar a 10 000 RPM, durante 3 ó 4 min a temperatura ambiente (la temperatura de la centrifuga puede variar).
8. Transferir el sobrenadante a un tubo eppendorf de 1.5 mL nuevo ya rotulado. Si partes del pellet se vierten con el sobrenadante, centrifugar una vez más por 1 min.
9. A las muestras grandes añadir 60 μ L de **solución de lisis LDT**; a las muestras pequeñas añadir 50 μ L de LDT.
10. Mezclar abundantemente en el vórtex durante 15 s. Luego, hacer un breve toque de spín en una microcentrifuga.
11. Incubar en el termoblock a 70°C por 10 min. Después, hacer un breve toque de spín.
12. A las muestras grandes, añadir 80 μ L de etanol al 96% (v/v) o etanol absoluto; a las muestras pequeñas, añadirles 67 μ L.
13. Mezclar abundantemente en el vórtex durante 15 s. Después hacer un breve toque de spin. El lisado se ha obtenido.

III.- Lavados del lisado

Los lavados se realizan en un presurizador proporcionado por el kit. Para los lavados se debe colocar cada lisado en un cartucho que tiene un filtro muy fino que concentra el ADN cuando se hacen los lavados. Posteriormente el ADN se extrae de los filtros por elución.

13. Colocar el tren de cartuchos del presurizador en el área de lavado (W).
14. Insertar los cartuchos en el tren y una cubeta de colecta bajo cada cartucho; en estas cubetas se acumularán los restos del lavado de las muestras.
15. Verter cada lisado en un cartucho. Observar que el lisado haya caído en su totalidad en el cartucho, evitando dejar reminiscencias en los tubos eppendorf.
16. Empujar hasta el tope el tren de cartuchos hacia el interior del presurizador. Jalar las perillas para activar la presurización (presurización 1). Durante la presurización, observar detenidamente que en los cartuchos todo el líquido haya desaparecido de éstos y caído en las cubetas. Esperar a que termine la presurización, o bien, si ya se está seguro de que no queda líquido en los cartuchos, girar hacia el lado contrario las perillas y suspender la presurización.
17. Jalar el tren y agregar a cada cartucho el **buffer de lavado WDT**. Para las muestras grandes, agregar 250 μL de WDT y para las chicas, 208 μL . Este es el primer lavado. Al pipetear el WDT a los cartuchos no tocar con la punta el filtro para no perforarlo.
18. Repetir el paso 16 para aplicar la presurización 2.
19. Repetir el paso 17 para hacer el segundo lavado.
20. Repetir el paso 16 para aplicar la presurización 3.
21. Repetir el paso 17 para hacer el tercer lavado.
22. Repetir el paso 16 para aplicar la presurización 4.
23. Después de 4 presurizaciones, quitar el tren de cartuchos y colocarlo en el área de elución (E). Colocar bajo cada cartucho un tubo eppendorf de 1.5 mL nuevo y rotulado; los tubos deben colocarse debajo de los cartuchos en el mismo orden en que se vertieron los lisados a cada cartucho. Los tubos van a recibir el ADN eluído.
24. Agregar a cada cartucho 50 μL del **buffer de elución CDT** para muestras grandes y 30 – 40 μL para muestras pequeñas. Se recomienda dejar incubar el CDT en los cartuchos 90 s antes de aplicar la presurización.
25. Aplicar una presurización (presurización 5), como en el paso 16. Asegurarse de que ya no fluya líquido bajo los cartuchos cuando haya acabado la presurización, signo de que todo el ADN ha sido eluído. Si se observa que aún queda líquido en los cartuchos, volver a aplicar presurización, hasta desalojar todo el líquido de éstos.
26. Recoger los tubos eppendorf con el ADN genómico eluído disuelto en el buffer de elución CDT. Almacenar las muestras a -20°C .

ANEXO 2. Condiciones de las PCRs

Para todos los microsatélites en todas las muestras se utilizaron las siguientes condiciones para las PCRs (Ortega *et al.*, 2002).

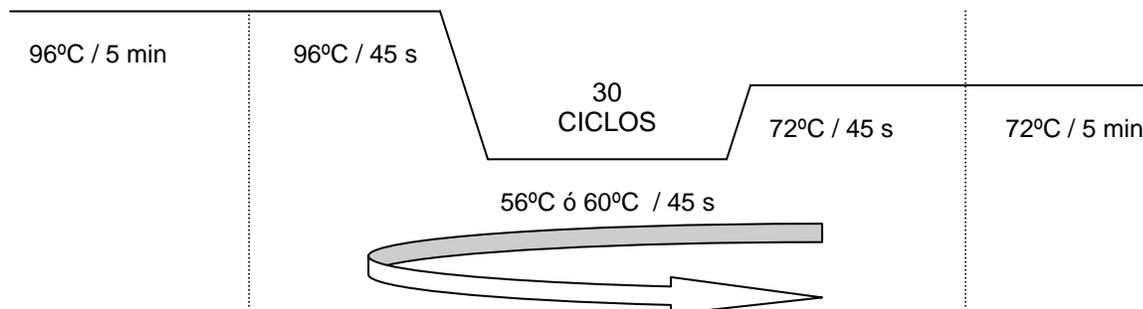
REACTIVO	VOLUMEN (μL)
H ₂ O	2.4
MgCl ₂ (1.5mM)	0.15
Buffer de reacción 10X [§]	0.5
dNTPs (0.2mM)	0.5
Primer forward (0.4 μM)	0.2
Primer reverse (0.4 μM)	0.2
Taq (0.25U) [§]	0.05
ADN [¥]	1
VOLUMEN FINAL	5

[§]Se utilizaron indistintamente dos Taq: la Taq DNA Polymerase Recombinant de Invitrogen[®], cuyo buffer de reacción está a una concentración de 10X sin MgCl₂ y está compuesto de 200mM de Tris – HCl (pH 8.4) y 500 mM de KCl; y la Taq DNA Polymerase Recombinant de Vivantis[®]; para la Taq de Vivantis[®] se utilizó el buffer de reacción ViBufferA 10X sin MgCl₂ que está compuesto de 500mM de KCl, 100mM de Tris – HCl (pH 9.1 a 20°C) y 0.1% de Tritón[™]X-100. Ambas Taqs están a una concentración de 5U/ μL .

[¥]Para algunas muestras fue necesario diluir 1:10 el volumen de ADN añadido según la concentración de los productos de PCR que se obtenía

Para algunas muestras fue necesario modificar las concentraciones de los primers y añadir un volumen mayor de ADN.

Para todos los microsatélites se siguió el siguiente programa de PCR:



En todos los loci se usó una temperatura de alineamiento de 56°C, mientras que en AjA185 y AjA123 se usó una temperatura de 60°C (Ortega *et al.*, 2003)

ANEXO 3. Frecuencias alélicas observadas por localidad para cada locus y alelos privados para cada localidad.

Locus		Localidades										
AjA40	Alelo	SMF	CH	MCC	SPSM	Aer	SMP	PS	MT	Cenot	CEch	SMC
	182 ¹	0.125	0.077	0.000	0.000	0.167	0.083	0.125	0.429	0.107	0.125	0.079
	186	0.125	0.115	0.000	0.000	0.042	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.158
	194	0.000	0.038	0.000	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	196	0.000	0.038	0.000	0.100	0.042	0.083	0.125	0.071	0.107	0.042	0.026
	198	0.000	0.000	0.250	0.000	0.042	0.083	0.000	0.071	0.000	0.125	0.132
	200	0.250	0.115	0.000	0.100	0.125	0.167	0.000	0.071	0.143	0.167	0.132
	202	0.125	0.115	0.000	0.300	0.167	0.125	0.250	0.000	0.179	0.125	0.053
	204	0.250	0.038	0.000	0.100	0.125	0.167	0.125	0.000	0.107	0.083	0.079
	206	0.125	0.231	0.250	0.100	0.042	0.125	0.000	0.071	0.143	0.083	0.184
	208	0.000	0.115	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.143	0.036	0.000	0.053
	210	0.000	0.000	0.500	0.100	0.083	0.042	0.125	0.071	0.071	0.083	0.026
	212	0.000	0.000	0.000	0.100	0.000	0.042	0.125	0.071	0.000	0.042	0.000
	214	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.071	0.042	0.026
	216	0.000	0.077	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.036	0.042	0.053
	220	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000
	222	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042 ²	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AjA185	90	0.125	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143	0.000	0.000	0.000
	98	0.125	0.038	0.000	0.100	0.000	0.167	0.000	0.071	0.071	0.125	0.105
	100	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.000	0.071	0.143	0.125	0.132
	102	0.125	0.154	0.250	0.300	0.167	0.083	0.000	0.071	0.071	0.125	0.158
	104	0.000	0.115	0.000	0.300	0.000	0.042	0.000	0.214	0.179	0.292	0.132
	106	0.000	0.000	0.000	0.000	0.208	0.125	0.000	0.000	0.071	0.167	0.026
	108	0.125	0.038	0.000	0.100	0.125	0.042	0.250	0.000	0.036	0.000	0.132
	110	0.125	0.192	0.000	0.000	0.000	0.292	0.250	0.000	0.036	0.000	0.105
	112	0.125	0.038	0.000	0.100	0.000	0.042	0.250	0.000	0.107	0.000	0.026
	114	0.000	0.269	0.000	0.100	0.125	0.042	0.000	0.214	0.036	0.042	0.000
	116	0.000	0.000	0.500	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.036	0.083	0.026
	118	0.000	0.038	0.000	0.000	0.167	0.000	0.000	0.000	0.179	0.000	0.026
	120	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	122	0.125	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	124	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143	0.000	0.000	0.053
	126	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.071	0.036	0.000	0.026
	128	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000
	130	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0.042	0.250	0.000	0.000	0.000	0.053
	132	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AjA151	136	0.250	0.500	0.250	0.300	0.458	0.292	0.250	0.214	0.286	0.333	0.447
	140	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	152	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000	0.143	0.071	0.000	0.105
	154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026
	156	0.000	0.000	0.000	0.300	0.000	0.000	0.250	0.143	0.071	0.083	0.000
	158	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.042	0.000	0.000	0.036	0.000	0.000
	160	0.125	0.000	0.250	0.100	0.167	0.000	0.000	0.071	0.071	0.042	0.053

	162	0.125	0.038	0.000	0.100	0.000	0.125	0.125	0.000	0.107	0.000	0.053
	164	0.250	0.154	0.000	0.000	0.125	0.125	0.250	0.143	0.107	0.167	0.079
	166	0.000	0.115	0.000	0.100	0.083	0.000	0.125	0.143	0.071	0.125	0.132
	168	0.125	0.077	0.000	0.000	0.042	0.042	0.000	0.143	0.143	0.000	0.053
	170	0.000	0.038	0.250	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.036	0.167	0.000
	172	0.125	0.038	0.250	0.100	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.083	0.053
	174	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AjB464	226	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026
	228	0.000	0.192	0.000	0.200	0.000	0.083	0.125	0.071	0.036	0.000	0.079
	230	0.250	0.192	0.250	0.000	0.292	0.292	0.000	0.214	0.250	0.167	0.289
	232	0.125	0.038	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.214	0.179	0.083	0.158
	234	0.000	0.269	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000
	236	0.000	0.077	0.000	0.200	0.000	0.042	0.375	0.000	0.036	0.000	0.026
	238	0.000	0.038	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.105
	240	0.000	0.115	0.250	0.200	0.125	0.125	0.250	0.143	0.214	0.083	0.105
	242	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.000	0.250	0.071	0.000	0.042	0.053
	244	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000
	246	0.375	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.167	0.026
	248	0.000	0.000	0.250	0.100	0.042	0.000	0.000	0.000	0.036	0.125	0.026
	250	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.036	0.042	0.000
	252	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.083	0.000	0.071	0.000	0.000	0.026
	254	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.042	0.000	0.143	0.000	0.000	0.000
	256	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.071	0.042	0.000
	258	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.042	0.053
	260	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	262	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	264	0.000	0.000	0.000	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.026
	266	0.125	0.000	0.000	0.200	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	270	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000
AjA84	104	0.375	0.154	0.000	0.100	0.083	0.125	0.000	0.214	0.143	0.083	0.053
	106	0.375	0.077	0.000	0.300	0.125	0.042	0.000	0.000	0.214	0.083	0.026
	108	0.000	0.077	0.250	0.300	0.000	0.042	0.125	0.143	0.036	0.125	0.132
	110	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.214	0.000	0.000	0.026
	112	0.000	0.077	0.000	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.042	0.053
	114	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026
	122	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000
	124	0.000	0.000	0.000	0.200	0.042	0.125	0.500	0.000	0.071	0.083	0.000
	126	0.000	0.154	0.000	0.000	0.042	0.208	0.000	0.000	0.071	0.083	0.079
	128	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	132	0.000	0.077	0.000	0.000	0.042	0.000	0.125	0.000	0.071	0.000	0.026
	134	0.000	0.038	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.143	0.000	0.000	0.026
	136	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.143	0.000	0.125	0.053
	138	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.036	0.000	0.079
	142	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026
	144	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.042	0.000	0.071	0.071	0.083	0.026
	146	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	148	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.107	0.167	0.053

150	0.125	0.231	0.250	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.036	0.083	0.000
152	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.132
154	0.000	0.077	0.000	0.000	0.042	0.042	0.000	0.000	0.071	0.000	0.079
156	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
158	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.026
160	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
162	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.053
166	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.026
168	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
170	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
172	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AjA123	220	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.042	0.000
	230	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143	0.000	0.000	0.000
	234	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026
	236	0.000	0.192	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.071	0.042	0.026
	238	0.000	0.077	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.053
	240	0.000	0.115	0.000	0.100	0.083	0.083	0.375	0.071	0.071	0.079
	242	0.000	0.077	0.000	0.100	0.125	0.083	0.125	0.071	0.107	0.158
	244	0.125	0.115	0.000	0.100	0.208	0.125	0.000	0.071	0.179	0.250
	246	0.250	0.038	1.000	0.200	0.125	0.208	0.000	0.000	0.143	0.000
	248	0.125	0.077	0.000	0.100	0.125	0.083	0.125	0.214	0.036	0.042
	250	0.375	0.154	0.000	0.200	0.208	0.292	0.375	0.357	0.214	0.333
	252	0.000	0.115	0.000	0.200	0.083	0.125	0.000	0.071	0.107	0.250
	254	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042

¹Alelos denominados por su tamaño en pares de bases (pb) en cursivas.

²Frecuencia de cada alelo privado representado en negritas.

ANEXO 4. Frecuencias alélicas corregidas usando el algoritmo EM (Dempster *et al.*, 1977) implementado en el programa FreeNA para cada localidad en cada locus¹.

Locus	Localidad	Alelo	Frecuencia observada	Frecuencia modificada	
AjA40	SPSM	202	0.3	0.299998	
		999 [†]	0	0.000002	
	Aer	202	0.166667	0.166501	
		182	0.166667	0.166501	
	SMP	999	0	0.000332	
		182	0.083333	0.083046	
	Cenot	999	0	0.000287	
		196	0.107143	0.107141	
	CEch	999	0	0.000001	
		204	0.083333	0.083046	
	SMC	999	0	0.000287	
		204	0.078947	0.078934	
	AjA185	CH	206	0.184211	0.184205
			999	0	0.000019
Aer		102	0.153846	0.145178	
		110	0.192308	0.185164	
		114	0.269231	0.263925	
SMP		999	0	0.021118	
		102	0.166667	0.151671	
		118	0.166667	0.151671	
PS		106	0.208333	0.195687	
		999	0	0.042639	
		110	0.291667	0.277776	
MT		106	0.125000	0.111109	
		999	0	0.027781	
		108	0.250000	0.166666	
Cenot		130	0.250000	0.166666	
		999	0	0.166667	
		114	0.214286	0.169171	
CEch		104	0.214286	0.169171	
		124	0.142857	0.088065	
		999	0	0.145023	
SMC		100	0.142857	0.121434	
		102	0.071429	0.042470	
		104	0.178571	0.137934	
SMF		999	0	0.091019	
	104	0.291667	0.286067		
	106	0.166667	0.161963		
Aer	999	0	0.010303		
	102	0.157895	0.152956		
	110	0.105263	0.098305		
AjA151	SMF	104	0.131579	0.125808	
		999	0	0.017668	
	Aer	164	0.25	0.249501	
		999	0	0.000499	
		160	0.166667	0.166663	

		136	0.458333	0.458331
		999	0	0.000006
	SMP	136	0.291667	0.224914
		154	0.083333	0.048235
		152	0.166667	0.139641
		999	0	0.128876
	Cenot	136	0.285714	0.278481
		168	0.142857	0.130292
		162	0.107143	0.091580
		999	0	0.035361
	CEch	136	0.333333	0.299747
		166	0.125	0.103522
		999	0	0.055063
	SMC	136	0.447368	0.447365
		166	0.131579	0.131576
		999	0	0.000006
AjB464	SMF	246	0.375	0.374999
		999	0	0.000001
	CH	230	0.192308	0.167422
		234	0.269231	0.199272
		228	0.192308	0.167422
		236	0.076923	0.043208
		999	0	0.153444
	SPSM	266	0.2	0.114286
		228	0.2	0.114286
		240	0.2	0.114286
		236	0.2	0.114286
		999	0	0.342857
	Aer	232	0.083333	0.046108
		230	0.291667	0.240280
		238	0.125	0.091295
		254	0.083333	0.046108
		256	0.125	0.091295
		999	0	0.193249
	SMP	230	0.291667	0.239792
		258	0.083333	0.046010
		240	0.125	0.091138
		252	0.083333	0.046010
		226	0.083333	0.046010
		999	0	0.197708
	PS	240	0.25	0.151782
		236	0.375	0.293118
		242	0.25	0.151782
		999	0	0.278319
	MT	232	0.214286	0.167496
		240	0.142857	0.086732
		254	0.142857	0.086732
		999	0	0.159040
	Cenot	232	0.178571	0.131045
		230	0.25	0.187723
		240	0.214286	0.193805

		999	0	0.130285
	CEch	246	0.166667	0.138082
		230	0.166667	0.138082
		248	0.125	0.093164
		270	0.166667	0.104820
		999	0	0.150851
	SMC	232	0.157895	0.117212
		230	0.289474	0.221816
		258	0.052632	0.028044
		228	0.078947	0.055863
		240	0.105263	0.083501
		238	0.105263	0.083501
		999	0	0.199537
AjA84	CH	106	0.076923	0.042261
		150	0.230769	0.205688
		132	0.076923	0.042261
		154	0.076923	0.042261
		126	0.153846	0.124789
		112	0.076923	0.042261
		999	0	0.192789
	MCC	148	0.5	0.499294
		999	0	0.000706
	SPSM	106	0.3	0.236839
		108	0.3	0.236839
		124	0.2	0.123291
		999	0	0.203032
	Aer	106	0.125	0.116097
		160	0.166667	0.159797
		999	0	0.015772
	SMP	104	0.125	0.1
		124	0.125	0.1
		160	0.125	0.1
		999	0	0.075001
	PS	124	0.5	0.499999
		999	0	0.000001
	MT	134	0.142857	0.086732
		136	0.142857	0.086732
		110	0.214286	0.167496
		999	0	0.159040
	Cenot	104	0.142857	0.118364
		106	0.214286	0.171339
		132	0.071429	0.040560
		154	0.071429	0.040560
		999	0	0.129175
	CEch	106	0.083333	0.044189
		150	0.083333	0.044189
		126	0.083333	0.044189
		108	0.125	0.088075
		148	0.166667	0.093313
		124	0.083333	0.044189
		144	0.083333	0.044189

		136	0.125	0.088075
		999	0	0.342926
	SMC	154	0.078947	0.056198
		126	0.078947	0.056198
		108	0.131579	0.111507
		112	0.052632	0.028237
		152	0.131579	0.089459
		138	0.078947	0.056198
		162	0.052632	0.028237
		999	0	0.179228
AjA123	SMF	246	0.25	0.174867
		250	0.375	0.318401
		999	0	0.131732
	CH	236	0.192308	0.147398
		252	0.115385	0.088446
		242	0.076923	0.045384
		999	0	0.103388
	MCC	246	1	0.999001
		999	0	0.000999
	SPSM	246	0.2	0.12
		250	0.2	0.12
		252	0.2	0.12
		999	0	0.24
	Aer	248	0.125	0.096238
		250	0.208333	0.186018
		244	0.208333	0.186018
		240	0.083333	0.049476
		999	0	0.107249
	SMP	246	0.208333	0.176913
		248	0.083333	0.044848
		250	0.291667	0.200385
		244	0.125	0.089218
		252	0.125	0.089218
		242	0.083333	0.044848
		999	0	0.271235
	PS	250	0.375	0.333332
		240	0.375	0.333332
		999	0	0.083336
	MT	248	0.214286	0.164256
		250	0.357143	0.273739
		230	0.142857	0.084284
		999	0	0.192006
	Cenot	246	0.142857	0.116842
		250	0.214286	0.167761
		220	0.071429	0.039733
		244	0.178571	0.154658
		242	0.107143	0.078589
		999	0	0.156704
	CEch	250	0.333333	0.324878
		244	0.25	0.239297
		252	0.25	0.227801

	999	0	0.041358
SMC	246	0.157895	0.117174
	250	0.263158	0.192001
	252	0.078947	0.055852
	238	0.052632	0.028037
	242	0.157895	0.117174
	999	0	0.200288

[†]Se muestran sólo las frecuencias alélicas que se modificaron por la presencia de alelos nulos en cada localidad.

[†]El tamaño del alelo nulo se representa en negritas como 999.

ANEXO 5 . Estadísticos F calculados por locus según Weir y Cockerham (1984)

LOCUS	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
AjA40	-0.0112	-0.0012	-0.0124
AjA185	0.1482	0.0248	0.1694
AjA151	0.0749	-0.0035	0.0717
AjB464	0.4273	-0.0002	0.4271
AjA84	0.3496	0.0144	0.3590
AjA123	0.3946	-0.0088	0.3893
Total	0.2321	0.0046	0.2356

ANEXO 6. Relaciones de parentesco para todos los individuos de *A. jamaicensis* en la Isla Cozumel.

PARENTESCO	PORCENTAJE DE PARES DE INDIVIDUOS ¹
Sin relación	85.9%
Medios hermanos	12.7%
Hermanos completos	1.1%
Padre – hijo	0.28%

[†]Valores calculados respecto a un número total de 5356 pares de individuos

ANEXO 7. Valores de P de la prueba exacta de equilibrio de HW y coeficientes de endogamia (F_{IS}) de Weir y Cockerham (1984) calculados para cada locus en cada localidad

Localidades		Loci					
		AjA40	AjA185	AjA151	AjB464	AjA84	AjA123
SMF	P	1.0000	1.0000	0.3122	0.6582	1.0000	0.0859
	F_{IS}	-0.0909	0.0000	0.2174	0.1429	-0.3333	0.4545
CH	P	0.9498	0.7384	0.8481	0.0078	0.0011	0.0386
	F_{IS}	-0.1025	0.1273	-0.0573	0.3846	0.4126	0.2500
MCC	P	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.3335	nc
	F_{IS}	-0.3333	-0.3333	0.0000	0.0000	0.5000	nc
SPSM	P	0.3327	1.0000	0.7736	0.0009	0.0341	0.0028
	F_{IS}	0.1579	-0.1765	-0.1765	0.8000	0.5556	0.6000
Aer	P	0.4648	0.0852	0.6903	0.0067	0.0618	0.0290
	F_{IS}	0.1057	0.1646	0.0198	0.4430	0.1200	0.2574
SMP	P	0.5138	0.0691	0.0008	0.0009	0.0441	0.0001
	F_{IS}	0.0082	0.1574	0.3447	0.4545	0.1951	0.6207
PS	P	1.0000	0.1246	1.0000	0.0285	0.7718	0.3136
	F_{IS}	-0.0435	0.4545	-0.1429	0.7273	0.0526	0.4000
MT	P	1.0000	0.0284	1.0000	0.0282	0.0693	0.0053
	F_{IS}	-0.2353	0.3924	-0.1053	0.3924	0.3846	0.5135
Cenot	P	0.4742	0.0121	0.4333	0.0006	0.0055	0.0173
	F_{IS}	-0.0181	0.2262	0.1146	0.3540	0.3118	0.3697
CEch	P	0.3853	0.2031	0.0558	0.0028	0.0000	0.1439
	F_{IS}	0.0202	0.1391	0.2108	0.3740	0.7412	0.1619
SMC	P	0.6660	0.2785	0.3013	0.0000	0.0000	0.0000
	F_{IS}	0.0145	0.0828	0.0491	0.4662	0.3982	0.4618

nc = valores no calculados por falta de información

En negritas, valores de P significativos con corrección de Bonferroni secuencial.