



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Biología

**Estructura genética poblacional del
pato mexicano (*Anas diazi*) en México**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

P R E S E N T A

DAVID COLÓN QUEZADA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. BERTHA PATRICIA ESCALANTE
PLIEGO

COMITÉ TUTOR: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA,
DR. ADRIAN NIETO MONTES DE OCA

MÉXICO, D.F.

ENERO, 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Biología

**Estructura genética poblacional del
pato mexicano (*Anas diazi*) en México**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

P R E S E N T A

DAVID COLÓN QUEZADA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. BERTHA PATRICIA ESCALANTE
PLIEGO

COMITÉ TUTOR: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA,
DR. ADRIAN NIETO MONTES DE OCA

MÉXICO, D.F.

ENERO, 2012



Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM

Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 17 de octubre de 2011, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA AMBIENTAL)** del alumno **COLON QUEZADA DAVID** con número de cuenta **509013941** con la tesis titulada **"Estructura genética poblacional del pato mexicano (*Anas diazi*) en México"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. BERTHA PATRICIA ESCALANTE PLIEGO**:

Presidente: DRA. GABRIELA PARRA OLEA
Vocal: DR. ROGELIO ALEJANDRO ALONSO MORALES
Secretario: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGUENZA
Suplente: DRA. KATHERINE RENTON
Suplente: DR. ADRIAN NIETO MONTES DE OCA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 17 de Noviembre de 2011.

M. del Coro Arizmendi
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT) por la Beca Continua para estudios de Posgrado otorgada de 2009 a 2010.

A los miembros del comité tutor: Dra. Bertha Patricia Escalante Pliego, Dr. Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza, Dr. Adrian Nieto Montes de Oca

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Quiero agradecer especialmente a la Dra. Patricia Escalante Pliego por abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme desarrollar mi proyecto aún cuando las aves acuáticas no son su especialidad; su apoyo fue crucial para lograr este objetivo en mi vida profesional.

Agradezco enormemente al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT) por la Beca para Estudios de Posgrado que me fue otorgada, la cual fue fundamental para solventar una buena parte del trabajo de campo.

Al Dr. Jorge Ortega Reyes por su amabilidad, y por compartir sus conocimientos y basta experiencia en la genética de la conservación. A la M. en C. Laura Márquez por su disponibilidad para enseñarme y permitirme trabajar en el laboratorio de biología molecular del IBUNAM. Asimismo, agradezco el apoyo desinteresado del Dr. Robert Wilson (Fairbanks University of Alaska) cuyos comentarios y opiniones fortalecieron el análisis de los resultados.

El éxito del proyecto estuvo asociado en buena parte al apoyo, ayuda y colaboración que brindaron diversas instituciones, organizaciones y personas para realizar las recolectas de patos en los diferentes sitios y Estados de la República Mexicana para los cuales se desarrollo este estudio: Dirección General de Vida Silvestre (SEMARNAT) al otorgar el permiso especial de colecta científica para una especie prioritaria; Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), para colectar en el APFF Ciénegas del Lerma; Instituto de Ecología y Medio Ambiente del Estado de Zacatecas; Delegación SEMARNAT Zacatecas; a mi Papá por su valiosa ayuda en las primeras colectas en Lerma; Sr. Urbano García Alejandro (UMA's Tlazala y Huitzilapan, Ciénegas del Lerma); Srs. Carlos Osorio Martínez, Sócrates Gutiérrez

Ballesteros, Sabino Gutiérrez Gutiérrez (Ejido San Pedro Tultepec, Ciénegas del Lerma); Sr. Juan Hernández Martínez, Sr. Santiago Catarino Narcisa (Vaso Centro Ciénegas del Lerma); M. en C. Oscar F. Reyna Bustos (Universidad de Guadalajara); Dr. Manuel Guzmán Arroyo (Universidad de Guadalajara); Dr. Alberto Lafon Terrazas (Universidad Autónoma de Chihuahua); Biól. Eduardo M. Carrera González (Ducks Unlimited de México A.C.); A los propietarios de la Ex-Hacienda San José Atlangatepec, Tlaxcala; Biól. Alejandro Juárez Reina (Consultoría de Vida Silvestre S. C.); M. en C. Jorge Agustín Villordo Galván (UMA Golondrinos, Atlangatepec, Tlaxcala); Sr. Arturo Suárez y Sr. Julio Suárez C. (UMA Epifanio C. Pérez "El Banco" laguna de Cuitzeo, Michoacán); Municipio de Cuitzeo, Michoacán, administración 2008-2011; Sr. Arturo López, Eladio Rivero Castillo, Norberto Franco Hernández, Ignacio Sabiñón (Laguna de Tecocomulco, Hidalgo); Miguel Ángel Cruz Nieto, (PRONATURA NOROESTE); M. C. Manuel de Jesús Macías Patiño (SEMARNAT Zacatecas); Miguel Ángel Díaz Castorena (SEMARNAT Zacatecas); Sr. Alfonso Del Cojo Haro (propietario de la UMA "Los Espejos", Zacatecas) y al Biól. Antonio Soto Méndez por apoyo en las colectas.

Finalmente a los doctores Katherine Renton (Estación biológica de Chamela, Instituto de Biología, UNAM) y al Dr. Hugh Drummond Durey (Instituto de Ecología, UNAM) por su siempre amable y entera disposición para apoyarme en cada ocasión que les distraía de sus importantes actividades. Les manifiesto mi total admiración y les agradezco que estén en México y compartir con nosotros sus conocimientos.

DEDICATORIA

A Josefina Curiel Álvarez, por ser mi motivación e inspiración para ser mejor cada día
y por toda la alegría y amor que le das a mi vida.

A mis padres por estar siempre, en cada instante de mi vida, apoyando
incondicionalmente con mucho amor y sacrificio cada proyecto en mi carrera
profesional.

Este trabajo es un homenaje póstumo a mis abuelos Esperanza Rincón, Rodolfo
Quezada Serna y Alfonso Colón Bobadilla, personas excepcionales que con su ejemplo
me enseñaron que el éxito en la vida personal y profesional está sustentado en la
honestidad, la honradez, el respeto, la humildad, el sacrificio, el amor y el trabajo duro
y bien hecho.

A mi Papá quién es el mayor artífice de mi formación profesional como biólogo de
aves acuáticas, ya que con su enorme entusiasmo por la naturaleza y la cacería de aves
acuáticas, sin imaginarlo, hizo de mi un apasionado de las aves acuáticas.

ÍNDICE

Resumen	V
Abstract	VI
I. Introducción	1
1.1 Microsatélites en estudios de genética de poblaciones y estructura poblacional de anátidos	4
II. Antecedentes	8
2.1 El pato mexicano	8
2.2 Situación actual	10
2.3 Estructura poblacional	11
III. Hipótesis	11
IV. Objetivos	12
V. Métodos	12
5.1 Colecta de ejemplares	12
5.2 Aislamiento de ADN genómico	14
5.3 Amplificación de microsatélites	14
5.4 Genotipificación	15
5.5 Análisis genéticos	
5.5.1 Diagnóstico de los datos moleculares	16
5.5.2 Diversidad genética	17
5.5.3 Diferenciación poblacional	18
5.5.4 Estructura genética poblacional	20
5.5.5 Flujo génico	21
5.5.6 Cuellos de botella poblacionales	22
5.6 Análisis morfométricos	23
VI. Resultados	
6.1 Colecta	24
6.2 Análisis genéticos	25
6.3 Análisis morfométricos	35
VII. Discusión	43
VIII. Conclusiones	63
X. Literatura citada	65
XI. Anexos	

Anexo 1. Clave para elegir el estimador nulo apropiado de los 4 algoritmos presentados en MicroChecker _____	75
Anexo 2. Frecuencias alélicas de cada locus y subpoblación _____	76
Anexo 3. Prueba de desequilibrio de ligamiento _____	77
Anexo 4. Frecuencia de heterócigos y homócigos por locus y subpoblación _____	78
Anexo 5. Frecuencia de alelos raros en cada subpoblación _____	79

Lista de cuadros

Cuadro 1. Número de patos mexicanos colectados por sitio por clases de edad_____	24
Cuadro 2. Resultados de la prueba exacta de Guo y Thompson (1992) del equilibrio de Hardy-Weinberg por locus _____	26
Cuadro 3. Número total de alelos por subpoblación (N_A), Riqueza alélica (A), Riqueza alélica con el método de rarefacción (A_r), número de alelos privados (No. A.P.), heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada (H_E) y F_{IS} promedio de los seis locus analizados _____	28
Cuadro 4. Resultados de la prueba exacta de Guo y Thompson (1992) del equilibrio de Hardy-Weinberg por subpoblación _____	27
Cuadro 5. Valores de F_{ST} _____	30
Cuadro 6. Resultados de AMOVA _____	30
Cuadro 7. Distancias genéticas de Nei entre cada par de subpoblaciones _____	31
Cuadro 8. Probabilidad de asignación de los individuos de cada subpoblación a cada uno de los grupos determinados por el programa Structure _____	32
Cuadro 9. Mediana ($M = m/\mu$) de la tasa de migración de individuos por generación entre pares de subpoblaciones _____	34
Cuadro 10. Resultados de la prueba de Wilcoxon del análisis de cuello de botella por subpoblación _____	34
Cuadro 11. Resultados de la prueba de Wilcoxon del análisis de cuello de botella por grupo genético _____	35
Cuadro 12. Medias, desviación estandar, rangos de las variables morfológicas para cada sexo en cada subpoblación y resultados de la comparación estadística de "U" de Mann-Whitney entre sexos de cada variable morfológica en cada subpoblación _____	36
Cuadro 13. Resultados estadísticos de la prueba de Kruskal-Wallis entre subpoblaciones _____	37
Cuadro 14. Análisis de componentes principales (PCA) de las variables morfológicas para los machos de las 7subpoblaciones estudiadas _____	40
Cuadro 15. Peso de los componentes (PCA) de las variables morfológicas para los machos de las 7subpoblaciones estudiadas _____	40
Cuadro 16. Análisis de componentes principales (PCA) de las variables morfológicas para las hembras _____	41

Cuadro 17. Peso de los componentes (PCA) de las variables morfológicas para las hembras _____	42
Cuadro 18. Diversidad genética en diversas especies de anátidos _____	52

Lista de figuras

Figura 1. Diferencias morfológicas entre machos y hembras de pato mexicano _____	9
Figura 2. Sitios de muestreo _____	13
Figura 3. Alelos raros por subpoblación de estudio _____	29
Figura 4. Árbol del vecino más cercano (Neiborg-Joining) sin raíz que representa la distancia génica de Nei et al. (1983) entre las subpoblaciones de estudio _____	31
Figura 5. Número estimado de grupos (K) a partir del programa Structure _____	32
Figura 6. Resultados de la estructuración poblacional y la asignación de individuos a los grupos determinados por el programa Structure _____	32
Figura 7. Medias e intervalos de confianza de la comparación múltiple de Tukey HSD al 95% de la longitud de la cabeza y longitud del ala en los machos entre subpoblaciones _____	38
Figura 8. Medias e intervalos de confianza de la comparación múltiple de Tukey HSD al 95% de la longitud de la cabeza en las hembras entre subpoblaciones _____	39
Figura 9. Análisis de componentes principales para las variables morfométricas de los machos de las 7 subpoblaciones _____	41
Figura 10. Análisis de componentes principales para las variables morfométricas de las hembras de las 5 subpoblaciones _____	42
Figura 11. Nidos de pato mexicano destruidos por incendio de tular en la temporada reproductiva 2008 en la laguna de Chiconahuapan, San Mateo Texcalyacac, Estado de México, polígono I del APFF Ciénegas del Lerma _____	55

RESUMEN

El pato mexicano (*Anas diazi*) es una especie endémica mexicana considerada amenazada por la NOM-059-SEMARNAT-2010. Esta especie es quizá la menos estudiada de los anátidos holárticos y su estructura genética poblacional, estatus migratorio y flujo génico son desconocidos, sin embargo la variación clinal en color del plumaje sugiere la subdivisión de las poblaciones. Los objetivos del proyecto fueron determinar la estructura genética poblacional del pato mexicano con marcadores microsatélites de ADN, determinar la diversidad genética por subpoblación y estimar el flujo genético interpoblacional. Se recolectaron muestras de patos mexicanos de cinco subpoblaciones: Tecocomulco, Atlangatepec, Ciénegas del Lerma, Bajío, Altiplano Norte. Se amplificaron seis microsatélites y por cada subpoblación se calculó la frecuencia alélica por loci, riqueza alélica, alelos raros, heterocigosis observada, heterocigosis esperada, índice de diferenciación poblacional, análisis de varianza molecular, distancia genética de Nei, la estructura genética poblacional, flujo génico y comparaciones morfológicas entre subpoblaciones. Se encontró estructura genética poblacional formada por dos grupos: uno formado el Altiplano Norte y el otro por el resto de las subpoblaciones muestreadas. La diversidad genética total fue 0.579, siendo el Altiplano Norte la subpoblación con la mayor diversidad y Atlangatepec la de menor diversidad. El flujo génico interpoblacional fue bajo (menos de un migrante por generación) con nulo flujo génico entre Altiplano Norte y las otras subpoblaciones. En ambos sexos se encontraron diferencias morfológicas interpoblacionales sólo en la longitud del culmen, y en la longitud del culmen y ala en machos, y en la longitud del culmen y cabeza en hembras. La estructura genética poblacional sugiere el manejo independiente para cada grupo genético evitando translocar individuos entre ellos. La diversidad genética del pato mexicano es intermedia respecto a patos migratorios, pero similar a la de patos no migratorios. El flujo génico interpoblacional es bajo, considerándose una especie sedentaria. La diferenciación poblacional en la longitud del culmen en ambos sexos es consistente con la estructura genética poblacional, pudiendo ser un indicador del origen genético de los individuos.

ABSTRACT

The Mexican duck (*Anas diazi*) is a Mexican endemic species, enlisted as threatened by the Mexican official list NOM-059-SEMARNAT-2010. The Mexican duck is maybe the least known of all Holarctic duck species and its genetic population structure, migratory status and interpopulation genetic flow are unknown; nevertheless, clinal variation in plumage colours suggests population subdivision. The objectives of this study were to determine the genetic population structure with microsatellite molecular markers of DNA, the genetic diversity for each population, and to estimate the interpopulation gene flow. I collected samples of Mexican ducks from five subpopulations: Tecocomulco, Atlangatepec, Ciénegas del Lerma, Bajío and Altiplano Norte. I amplified six microsatellites and for each subpopulation I calculated: the allelic frequency by loci, allele number, allele richness, allele uniqueness, the expected and observed heterozygosities, a population differentiation index, an analysis of molecular variance, Nei's genetic distance, genetic population structure, gene flow and interpopulation morphological comparisons. Our findings show a genetic population structure with two genetic groups: one group consists of Altiplano Norte populations and the other group consists of the rest of populations. The genetic diversity was 0.579, with higher genetic diversity at the Altiplano Norte and Atlangatepec with lower diversity. Interpopulation gene flow was low (less to 1 migrant by generation) and null gene flow between Altiplano Norte and the other subpopulations. Interpopulations morphologic differences were found only in culmen length. The culmen and wing length were different between subpopulations and culmen and head length were different for females. The genetic population structure of Mexican duck suggests the formulation of separate management strategies for each genetic group and the avoidance of translocation of Mexican ducks between them. The genetic diversity of Mexican duck is intermediate with regard to migratory ducks but similar to the other non migratory ducks. The Mexican duck has a low inter-population gene flow considered for a sedentary species. The length of culmen had a population differentiation consistent with the genetic population structure and it could be used like indicator of genetic origin of Mexican ducks.

I. Introducción

La genética de poblaciones de vida silvestre es un tema cada vez más común en los estudios ecológicos por su trascendencia para el manejo y conservación de especies, particularmente aquellas en peligro de extinción o amenazadas (Frankham et al. 2002).

La importancia de la genética de poblaciones para el manejo y conservación de la especie, radica en que estudia las diferencias en la diversidad genética que existen en las poblaciones naturales y las explica en términos de su origen, mantenimiento e importancia evolutiva (Hartl y Clark 1997). La diversidad genética, también llamada variabilidad genética, es la materia prima para la evolución (Hedrick 2005), y es en este sentido, que los esfuerzos de conservación de especies actualmente están dirigidos a tratar de proteger poblaciones con la mayor diversidad genética más que a la protección de sitios con alta densidad de individuos, ya que una alta diversidad genética representa una amplia capacidad para adaptarse a cambios en el ambiente incrementando la probabilidad de sobrevivencia de la población en el tiempo ecológico y evolutivo, haciéndola menos vulnerable a la extinción (Espinosa de los Monteros 2003).

La diversidad genética es cuantificada en función de la estructura poblacional de las especies, lo que permite determinar su estado actual, hacer predicciones y reconstruir su historia evolutiva (Hedrick 2005). La diversidad genética y su distribución dentro y entre poblaciones, así como entre individuos de una especie constituyen su estructura genética poblacional (Templeton 2006). Las especies pueden presentar estructura poblacional en la medida en la que la diversidad genética es diferente y única para cada población, pero cuando la diversidad genética es compartida entre subpoblaciones se habla de una población o grupo panmictico sin poblaciones disyuntas (Templeton 2006).

La estructura genética poblacional tiene tres componentes principales: flujo génico, deriva génica y los sistemas de apareamiento (Templeton 2006). El determinante principal de la estructura genética poblacional de una especie es el balance entre flujo génico y deriva génica dado sus efectos opuestos en la distribución de la variación alélica en y entre subpoblaciones (Templeton 2006). El flujo génico es un fenómeno que normalmente es reconocido por tener un efecto homogenizante de la variación genética entre subpoblaciones (Espinosa de lo Monteros 2003, Hedrick 2005). Dicho efecto homogenizante ocurre cuando el nivel de flujo génico es alto entre subpoblaciones denotando la existencia de una población panmictica (Espinosa de lo

Monteros 2003, Hedrick 2005). Adicionalmente, el flujo génico puede favorecer el incremento de la variabilidad genética de la población al aportar genes nuevos de una generación a otra (Slatkin 1987).

En contraste, nulo flujo génico entre poblaciones, ocasiona la diferenciación genética e incluso fenotípica de las poblaciones siempre que las poblaciones hayan permanecido aisladas por un número razonable de generaciones, que de acuerdo con Slatkin y Maddison (1989) tendría que ser dos veces el tamaño efectivo de la población, para que se fijaran marcadores moleculares para cada población. Kulikova *et al.* (2005) al estudiar la variación genética de las poblaciones de pato de collar (*Anas platyrhynchos*) del oeste de Rusia, norte de Asia, las Islas Aleutianas y el territorio continental de Alaska, encontraron que esta especie exhibe una estructura genética poblacional entre las poblaciones del continente Euro-Asiático y las poblaciones de Alaska, representado por la ocurrencia diferencial de haplotipos A y B del extremo 5' de la región control del ADNmt (primers L78 y H774), en las respectivas poblaciones, sugiriendo la falta de intercambio genético.

El flujo génico, por lo tanto, puede restringir la evolución de una especie evitando la diferenciación poblacional por adaptación a condiciones locales, o bien, promover la evolución dispersando genes nuevos o una combinación de ellos a lo largo del área de distribución de la especie (Slatkin 1987).

Por su parte, la deriva génica ocasiona la diferenciación genética de las subpoblaciones por la pérdida aleatoria de genotipos. La deriva génica es un proceso evolutivo que puede cambiar las frecuencias alélicas principalmente en poblaciones pequeñas donde los efectos de la selección natural o la cantidad de flujo génico son pequeños (Hedrick 2005). La diferenciación poblacional por deriva génica se da por la fijación o pérdida de alelos aleatoria en cada generación. Así pues, el efecto general de la deriva génica se expresa ampliamente en la variabilidad genética, ya que el cambio en las frecuencias alélicas lleva a la declinación de la variabilidad genética (Hedrick 2005, Templeton 2006). Los efectos de la deriva génica pueden ser continuos cuando las poblaciones son permanentemente pequeñas por efecto de recursos limitados en grandes periodos de tiempo, pero su efecto puede ser intermitente cuando las poblaciones tienen constantes fluctuaciones demográficas (Frankham *et al.* 2002).

Los cambios en las frecuencias alélicas también pueden suceder cuando hay eventos de cuellos de botella en los que las poblaciones pueden reducir su variación

genética por la reducción del número de individuos. En estos casos la deriva génica tendrá una fuerte presión en el cambio de las frecuencias alélicas (Hedrick 2005).

Los sistemas de apareamiento tienen un papel relevante en la estructura genética poblacional al determinar los patrones biológicos del flujo génico (Templeton 2006). Un tipo de apareamiento que conduce a la diferenciación poblacional son los apareamientos no azarosos, constituidos por el apareamiento asortativo positivo, la endogamia y la autofecundación. En estos tipos de apareamiento la reproducción ocurre entre individuos fenotípicamente parecidos, entre individuos genéticamente emparentados y en individuos dioicos capaces de autofecundarse; estas conductas al sostenerse a través de varias generaciones conllevan a la diferenciación genética poblacional al fijar alelos únicos (Hedrick 2005).

Los apareamientos que favorecen la panmixia son los apareamientos azarosos, dados por el comportamiento gregario y la migración de los individuos. En el caso de los anátidos (patos, gansos y cisnes, Bellrose 1980), la conducta gregaria en los sitios de invernación de individuos procedentes de diversas áreas reproductivas conduce a la homogenización poblacional dado que la formación de parejas ocurre durante esta época del año (Anderson *et al.* 1992). En otros casos, migraciones cortas locales entre diferentes sitios de reproducción por parte de los machos favorecen la homogenización genética poblacional (Allendorf y Luikart 2007).

Existen también fenómenos ecológicos y fuerzas evolutivas adicionales que pueden llegar a influir en la estructura genética poblacional al incidir directamente en los tres componentes principales como en el caso de la fragmentación de hábitat, cuellos de botella, endogamia, mutación y selección natural (Hedrick 2005, Allendorf y Luikart 2007).

Bajo este contexto, la genética molecular ha tenido un auge importante al ser una herramienta poderosa que provee información sobre la estructura genética poblacional, gracias al desarrollo de marcadores genéticos moleculares (Frankham *et al.* 2002). Con el empleo de marcadores moleculares es posible evaluar la variación genética en y entre las poblaciones, además, por su propiedad de mostrar los alelos presentes en las poblaciones, los marcadores moleculares son ampliamente utilizados en una gran variedad de estudios ecológicos y genéticos como en la evaluación de sistemas de apareamiento, determinación de la paternidad, mapas genéticos, flujo génico y estructura genética poblacional, para la priorización de las poblaciones y sitios a

proteger, así como en la formulación de propuestas de manejo de poblaciones de especies a partir del análisis de la calidad genética (Awise 2004, Williams *et al.* 2005).

De la variedad de marcadores moleculares existentes, los microsatélites son los marcadores más altamente empleados para la caracterización y estructura genética de poblaciones y especies por su alto poder en la expresión del máximo polimorfismo o variación existente (Slatkin 1995, Hedrick 2005). Los microsatélites son secuencias simples repetidas formadas de una a seis bases que se encuentran abundantemente en el ADN nuclear en regiones no codificantes (Hamada *et al.*, 1984, Ellegren 1991, Gupta *et al.* 1996). El polimorfismo es generado cuando dos cadenas de ADN se alinean fuera de registro. El resultado es la extensión o reducción de las unidades repetidas. La diferencia en el número de tandem repetidos puede mostrar diferencias entre individuos como entre grupos natales (Levinson y Gutman 1987).

Los microsatélites, aunados a tener el más alto grado de polimorfismo respecto a otros marcadores moleculares, se segregan de manera Mendeliana, son codominantes, son selectivamente neutros, pueden ser específicos para ciertos grupos de especies y homólogos entre sí, además tienen altas tasas de mutación por locus estimadas de entre 10^{-3} a 10^{-6} , lo que permite hacer análisis robustos de genealogía e historia evolutiva (Weber y Wong 1993, Cheng y Crittenden 1994, Golstein *et al.* 1996, Primmer *et al.* 1996).

1.1 Microsatélites en estudios de genética de poblaciones y estructura poblacional de anátidos

A partir de las últimas dos décadas, el empleo de marcadores moleculares microsatelitales ha sido extensivo en una amplia variedad de estudios genéticos moleculares en anátidos. Los estudios realizados incluyen análisis filogeográficos (Ej. Ganso canadiense, *Branta canadensis*, Scribner *et al.* 2003), estudios forenses de depredación de anátidos (Scribner y Bowman 1998), análisis de paternidad (Denk *et al.* 2004), elaboración de mapas genéticos (Ej. Pato de collar, *Anas platyrhynchos*, Huang *et al.* 2006), flujo génico (Tiedemann *et al.* 1999, Scribner *et al.* 2001), conservación y producción avícola (Li *et al.* 2006), análisis de parasitismo de nidos (Roy *et al.* 2006, Anderholm *et al.* 2009), evaluaciones del éxito de translocaciones (Talbot *et al.* 2003), hibridación (Mank *et al.* 2004, Williams *et al.* 2005, Fowler *et al.* 2009) y estructura genética poblacional (Cathey 1997, Lanctot *et al.* 1999, Pierson *et al.* 2000, Pearce *et al.* 2004, Williams *et al.* 2002, Williams *et al.* 2005, Sonsthagen *et al.* 2007, Muñoz-Fuentes *et al.* 2008).

Los estudios sobre estructura genética poblacional han sido de los más ampliamente desarrollados por su trascendencia en la generación de información rápida y puntual para la formulación de estrategias de manejo y conservación de especies para las cuales los patrones de migración no eran claros, en especies con declinación poblacional, distribución restringida o con poblaciones aisladas (Anderson *et al.* 1992). En especies para las cuales los estudios de ecología de poblaciones a través de métodos marcaje directo no revelan patrones contundentes de migración interpopulacionales, los estudios de estructura genética han sido un elemento poderoso para dilucidar claramente conexiones genéticas interpopulacionales. Por ejemplo, Cathey (1997) al estudiar la estructura genética de dos subpoblaciones natales de ganso canadiense menor (*Branta canadensis*) aisladas geográficamente en la ruta del centro en Norteamérica, encontró poca diferenciación genética entre subpoblaciones, sugiriendo una alta interacción interpopulacional mediada por fuerte flujo génico entre subpoblaciones.

Con base en evidencias de programas de anillamiento que sugerían la existencia de subpoblaciones demográficamente distintas de ganso canadiense aleutiano (*B. c. leucopareia*), en Alaska, Pierson *et al.* (2000), utilizaron siete microsatélites heredados biparentalmente y ADN mitocondrial para evaluar la relación genética del ganso canadiense aleutiano de las Islas Buldir y Semidi, el flujo génico entre poblaciones y el efecto genético de cuellos de botella de la población. Tanto los microsatélites como el ADN mitocondrial mostraron que las poblaciones de ganso canadiense aleutiano fueron genéticamente diferentes entre sí, sugiriendo limitado flujo génico y cambios mayores en la frecuencia génica por deriva génica por lo que las poblaciones podrían ser consideradas como unidades independientes para su manejo. Se encontraron evidencias de cuellos de botella poblacionales los cuales pudieron tener efecto en cambios en las frecuencias alélicas en períodos de tiempo reciente que acentuaron la diferenciación genética interpopulacional.

Por otro lado, estudios realizados en anátidos no migratorios con limitado flujo génico como el pato moteado (*Anas fulvigula*), mostraron que la estructura genética poblacional puede manifestar configuraciones diversas a diferentes escalas geográficas, con importantes repercusiones en términos del manejo de la especie. El pato moteado es una especie no migratoria con poblaciones en Florida y la Costa del Golfo de Texas y México (Bellrose 1980). A lo largo de toda su área de distribución las poblaciones de pato moteado manifiestan un alto grado de diferenciación genética con alelos únicos en

cada población indicando bajo flujo genético entre poblaciones (Williams *et al.* 2005). Sin embargo, en un estudio realizado por Williams *et al.* (2002) en el que se evaluaron los niveles de variación genética entre cuatro poblaciones reproductivas de pato moteado que manifiestan aislamiento físico a nivel regional en Florida, se detectó un bajo nivel de diferenciación genética y alto grado de flujo génico entre poblaciones.

Estudios recientes de la estructura genética poblacional usando microsatélites y marcadores de ADN mitocondrial (ADNm), han dado lugar a una evaluación más sutil sobre el flujo génico permitiendo revelar conductas filopátricas y migratorias de los sexos así como manifestar discordancias en la existencia de estructura genética poblacional. Estudios realizados en poblaciones de regiones reproductivas geográficamente separadas de patos marinos como el pato común (*Somateria mollissima*, Tiedemann *et al.* 1999, Sonsthagen *et al.* 2007) y el Spectacled Eider (*S. fisheri*, Scribner *et al.* 2001), encontraron que los microsatélites reflejaban una nula diferenciación genética interpoblacional, en tanto que el ADNm reveló divergencia genética entre poblaciones. Dado que el ADNm es heredado por vía materna y los microsatélites son de origen nuclear, se concluyó para ambas especies la existencia de filopatría natal y a los sitios de reproducción por parte de las hembras y alto flujo génico interpoblacional por parte de los machos.

En este contexto, Pearce *et al.* (2004), utilizando microsatélites y ADN mitocondrial del gen del citocromo *b*, estimaron el grado de diferenciación genética espacial entre áreas de anidación e invernación de pato rey (*Somateria spectabilis*) para probar la hipótesis de panmixia en las poblaciones reproductivas de la especie y la existencia de estructura genética poblacional entre poblaciones de diferentes áreas de invernación. Estudios previos de anillamiento, telemetría e isótopos estables sugerían la existencia de dos poblaciones reproductivas -la del oeste y la del este ártico- con un limitado intercambio de individuos, dos áreas de invernación aisladas geográficamente (Océano Pacífico y Océano Atlántico), filopatría al sitio natal y al sitio de invernación. Los resultados de ambos marcadores reflejaron una escasa diferenciación genética entre poblaciones en las áreas de reproducción y en las áreas de invernación encontrando una distribución similar de los alelos de los microsatélites y de haplotipos del ADNm entre poblaciones, sugiriendo que la especie es genéticamente panmictica y que el flujo genético histórico y el crecimiento de la población tienen frecuencias genéticas homogéneas entre las áreas de anidamiento e invernación.

Evaluaciones de la estructura genética poblacional en anátidos también se han empleado como un elemento fundamental para entender los procesos de recuperación de poblaciones posteriores a eventos de perturbación antrópica que generan una disminución súbita de las poblaciones así como para la implementación de estrategias de translocación. Lanctot *et al.* (1999), estudiaron el caso de la recuperación de la población de pato arlequín (*Histrionicus histrionicus*) después de un derrame de aceite en la región de Prince William Sound, Alaska y su dispersión a través de la península de Alaska y el archipiélago Kodiak en 1989, en donde los patos son residentes y la mortalidad estimada fue de 1298 a 2650 individuos. Utilizando 33 microsatélites, - biparentales, maternos y ligados al sexo-, encontraron que no ocurre variación espacial entre poblaciones dentro de las regiones y entre las regiones por lo que los individuos pertenecen a una población panmictica. Estos datos indican que el aceite no afectó a poblaciones demográficamente distintas sino que sus efectos fueron distribuidos en toda la población panmictica y que por lo tanto la población se recuperaría gradualmente.

Muñoz-Fuentes *et al.* (2008) hicieron una evaluación de la genética del pato de cabeza blanca (*Oxyura leucocephala*) endémico a Europa y el Norte de África, el cual ha sufrido una drástica reducción poblacional, con extinciones locales en muchos lugares que han generado un distanciamiento geográfico muy grande entre las poblaciones remanentes. El propósito del estudio fue comparar la genética de dos poblaciones silvestres remanentes (Oeste del Mediterráneo y Este del Mediterráneo) y dos poblaciones en cautiverio destinadas a la reintroducción de individuos, con el objetivo de documentar aspectos claves para el programa de conservación y reintroducción de la especie en Europa. Los microsatélites mostraron que las poblaciones silvestres tienen una mayor diversidad genética que las poblaciones en cautiverio; las poblaciones en cautiverio fueron significativamente diferentes una de otra y con respecto a las poblaciones silvestres, pero éstas no fueron diferentes entre si. Los resultados indican que no hay estructura genética poblacional, por lo que se justifica el tratamiento de las dos poblaciones silvestres como una sola unidad de manejo y el desarrollo de un solo programa de conservación. El hecho de que la diversidad genética fuera baja en las poblaciones en cautiverio sugiere que no son convenientes para su liberación exitosa en ambientes naturales y se requiere de la adición de individuos silvestres a las poblaciones de cautiverio para incrementar su diversidad genética.

II. Antecedentes

2.1 El Pato Mexicano

El pato mexicano (*Anas diazi*), también conocido como pato triguero, pato garbancero, pato criollo o pato real (Leopold 1959), pertenece a la familia Anatidae y a la tribu Anatini, que comprende a los patos de superficie (Leopold 1959, Johnsgard 1978). Su origen filogenético está enraizado al pato de collar (*Anas platyrhynchos*) (Johnson y Sorenson 1999) y es considerado el único anátido endémico mexicano, aún cuando existen poblaciones residentes en el sur de Estados Unidos, en los estados de Texas y Nuevo Mexico (Bellrose 1980).

En México, su área de distribución abarca desde el centro del país a través del Eje Neovolcánico Transversal en los estados de Tlaxcala, Hidalgo, México, Puebla y Distrito Federal, siguiendo a través de la meseta central en Michoacán, Guanajuato y Zacatecas; al noroeste en Nayarit y Jalisco, y al norte en los estados de Durango y Chihuahua (Leopold 1959, Aldrich y Baer 1970, Bellrose 1980, Saunders y Saunders 1981). Recientemente se han documentado nuevas áreas de distribución de la especie en los estados de Sinaloa y Sonora en la costa del Pacífico (Palacios y Mellink 1995, Russel y Monson 1998, González-Bernal *et al.* 2007).

Fenotípicamente, el pato mexicano es una especie monomórfica. Tanto hembras como machos tienen apariencia semejante a la de la hembra del pato de collar, aunque el macho es ligeramente más oscuro que la hembra, característica que es posible distinguir únicamente teniendo a los organismos en mano. La coloración corporal varía, siendo el cuerpo oscuro y la cabeza notablemente más clara (Bellrose 1980, Young 2005). El espéculo es verde iridiscente con una conspicua barra angosta de plumas blancas en los bordes superior e inferior. No presenta plumas blancas en la cola, lo que lo diferencia del pato de collar, el pato negro (*Anas rubripes*) y el pato moteado que son especies hermanas (Young 2005). La distinción sexual fenotípica más tangible ocurre en la etapa adulta y está dado por el color del pico, que es anaranjado en las hembras y amarillo verdoso en los machos (Leopold 1959, Bellrose 1980, Young 2005) (Figura 1).

Figura 1. Diferencias morfológicas entre machos (♂) y hembras (♀) de pato mexicano.



El pato mexicano es considerado una especie no migratoria, aunque no existen pruebas científicas contundentes de ello. El carácter no migratorio del pato mexicano le ha sido atribuido por la existencia de individuos invernantes y reproductivos en los sitios hábitat a lo largo de toda su área de distribución (Williams 1980). Sin embargo, Johnsgard (1961), Aldrich y Baer (1970) y Bellrose (1980), con base en evaluaciones poblacionales estacionales en diferentes sitios a lo largo de la distribución de la especie, propusieron el aparente carácter migratorio del pato mexicano, pues encontraron que durante el invierno la densidad poblacional disminuía ostensiblemente en los estados del Norte como Chihuahua, en comparación con densidades poblacionales más altas registradas para esos estados durante el periodo reproductivo.

Por otro lado, durante la temporada de estiaje cuando los humedales se desecan, los patos mexicanos pueden realizar movimientos cortos en busca de humedales remanentes donde pueden llegar a permanecer cientos de individuos. Con el inicio de las lluvias, muchos de los patos dejan los humedales y se vuelven a dispersar (Aldrich y Baer 1970, Williams 1980). A la fecha no se han llevado a cabo estudios de monitoreo directo de migración mediante programas de anillamiento, radio telemetría o transmisores satelitales, ni estimaciones indirectas a través de análisis genéticos que certifiquen el carácter migratorio de la especie.

2.2 Situación Actual

Actualmente, el pato mexicano está catalogado como especie *amenazada* de extinción por la NOM-ECOL-059-2001 (SEMARNAT 2002).

Estudios poblacionales indican que la población se encuentra estable con una densidad poblacional total estimada de 55,500 individuos (Williams 1980, North American Waterfowl Management Plan Plan Committee 2004). En el Norte de México, en los estados de Chihuahua y Durango, un crecimiento sustancial de la población de patos mexicanos ha venido ocurriendo desde los últimos 20 años del siglo XX paralelamente al desarrollo agrícola de la región que ha provisto de hábitat sustituto y recursos para la especie (Pérez-Arteaga *et al.* 2002). No obstante, en las últimas dos décadas la población de pato mexicano ha manifestado una reducción significativa en estados del centro de México, que históricamente albergaban las mayores concentraciones poblacionales, hecho asociado presumiblemente a la pérdida y degradación de sus hábitats. El lago de Chapala, Jalisco, y las Ciénegas del Lerma, Estado de México, son sitios en los que se ha registrado la mayor declinación poblacional y la menor tasa de crecimiento anual (Pérez-Arteaga *et al.* 2002).

Actualmente existe un creciente interés por la conservación del pato mexicano, que se ha visto limitado por la escasa información existente sobre sus aspectos ecológicos y poblacionales y la falta de estudios genéticos que aporten los elementos científicos sólidos que permitan formular un programa de conservación. Los estudios existentes giran en torno a aspectos taxonómicos (Pitelka 1948, Johnsgard 1961, Aldrich y Baer 1970), morfológicos (Scott y Reynolds 1984), historia natural (Williams 1980), reproductivos (González 1995), uso de hábitat (Medina *et al.* 2007), hábitos alimenticios (Colón 2009) y un estudio poblacional (Pérez-Arteaga *et al.* 2002). Este último, con base en las estimaciones de densidad por sitios a través de censos aéreos de los últimos 40 años, establece el primer escenario para la conservación de la especie, proponiendo 15 sitios prioritarios para la conservación del pato mexicano en México localizados en el centro y norte del país; estos sitios concentran más del 70% de la población total estimada de patos mexicanos, la mayoría de ellos localizados en la cuenca hidrológica del río Lerma.

En este sentido, la genética de poblaciones cobra gran trascendencia en aras de la conservación de la especie, pues las ineludibles evidencias de reducción poblacional en

el centro de México sugieren que ésta podría estar conduciendo a la pérdida de variabilidad genética.

2.3 Estructura poblacional

A lo largo de su área de distribución, se ha detectado que los patos mexicanos muestran una fehaciente variación fenotípica clinal en la coloración del plumaje (Aldrich y Baer 1970, Scott y Reynolds 1984). Las poblaciones del norte de México presentan una coloración más parecida a la del pato de collar, en tanto que las poblaciones del Centro no tienen influencia fenotípica del pato de collar, considerándose poblaciones “puras” de pato mexicano (Scott y Reynolds 1984). Tal variación clinal dió lugar a reconocer dos subespecies *A. diazi diazi* en el sur y *A. d. novimexicana* en el norte, aunque estudios posteriores concluyeron que *A. d. novimexicana* era inválida (Aldrich y Baer 1970).

Las evidencias de variación fenotípica suponen que el pato mexicano presenta una estructura poblacional que pudiera estar determinada por el aparente carácter no migratorio de las especie, favoreciendo el aislamiento genético y la existencia de poblaciones discretas aunque se desconoce si existe subdivisión de sus poblaciones.

Por lo tanto, estudiar la genética poblacional del pato mexicano es imprescindible para caracterizar la variación genética de las poblaciones a través de su área de distribución, con lo cual identificar sitios prioritarios para la conservación, sitios fuentes de recursos para la translocación y sitios para la restauración genética, así como para esclarecer la existencia de intercambio genético entre poblaciones y su posible disyunción que contribuiría a definir si éstas tendrían que ser manejadas como entidades discretas o como una población continua.

III. Hipótesis

1. Las poblaciones más cercanas geográficamente estarán más relacionadas genéticamente, teniendo altos valores de flujo génico y menores distancias génicas.

2. Dado que la variación fenotípica está más sujeta a la selección en contra de la variación básicamente neutral en los marcadores moleculares, los patrones de los dos conjuntos de datos (caracteres) no estarán correlacionados.

IV. Objetivos

General

Determinar la estructura genética de las poblaciones de pato mexicano (*Anas diazi*), usando marcadores moleculares microsatelitales de ADN.

Particulares

1. Determinar la diversidad genética para cada sitio o subpoblación muestreada
2. Estimar el flujo genético entre las poblaciones de pato mexicano del Centro y Norte de México.

V. Métodos

5.1 Colecta de ejemplares

Durante las temporadas reproductivas (Marzo-Agosto) de 2008, 2009 y 2010, se recolectaron muestras de tejido muscular de 73 patos mexicanos en siete localidades de siete estados a modo de cubrir el área de distribución de la especie. Los sitios de muestreo fueron: Laguna de Tecocomulco (Hidalgo), presa Atlangatepec (Tlaxcala), Ciénegas del Lerma (Estado de México), Lago de Chapala (Jalisco), Lago de Cuitzeo (Michoacán), Laguna Mexicanos (Chihuahua) y humedales del Valle de Fresnillo y Valparaíso (Zacatecas) (Figura 2).

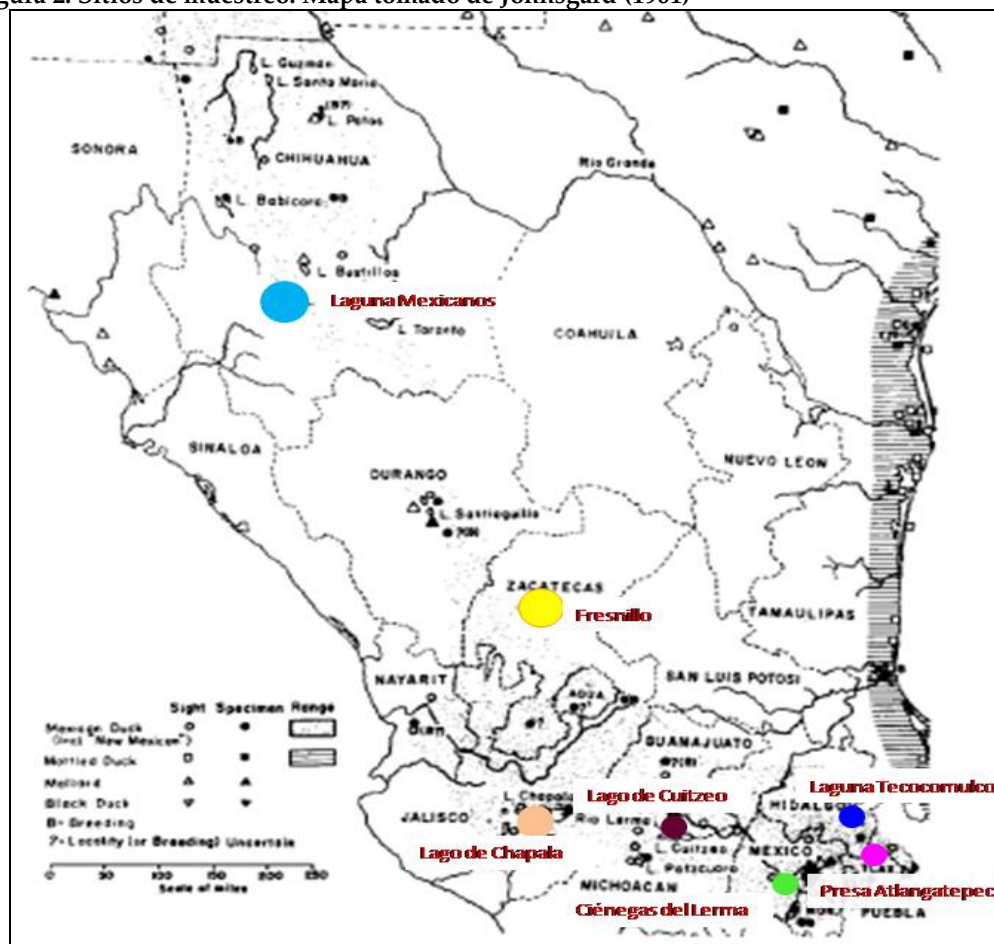
Los primeros dos sitios se eligieron por ser humedales representativos de la especie en el límite Este de su área de distribución. Ciénegas del Lerma y el lago de Chapala se eligieron por ser los sitios con la mayor disminución poblacional nacional reciente (Pérez-Arteaga *et al.* 2002) que pudiera tener una repercusión negativa en su diversidad genética. El lago de Cuitzeo y laguna Mexicanos se eligieron porque son considerados sitios prioritarios para la conservación del pato mexicano ya que albergan grandes tamaños poblacionales (Pérez-Arteaga *et al.* 2002), que pudiera tener una repercusión favorable en su diversidad genética.

La recolección de muestras se efectuó durante la época reproductiva para reducir la posibilidad potencial de muestrear organismos migrantes que pudieran distorsionar los resultados y obstaculizar la identificación de los marcadores moleculares de cada región geográfica.

En el campo, las muestras colectadas fueron colocadas en criotubos en placas de hielo seco a una temperatura aproximada de -4°C , para asegurar un buen estado de preservación del ADN. Una vez en el laboratorio, las muestras se depositaron en un criocongelador a -70°C para garantizar la preservación del material genético a largo plazo.

La toma de muestras se realizó por caza directa de los organismos con una escopeta calibre 12 (Registro No. A-364274 de la Secretaría de la Defensa Nacional), bajo la licencia de colector científico expedido por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y la licencia de colecta científica por proyecto sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico oficio número SGPA/DGVS/04189/09 otorgada por la Dirección General de Vida Silvestre de la SEMARNAT.

Figura 2. Sitios de muestreo. Mapa tomado de Johnsgard (1961)



5.2 Aislamiento del ADN genómico

La extracción de ADN se realizó con la técnica de fenol-cloroformo (Sambrook *et al.* 1989) y consiste de tres fases: a) Lisis: Se colocan en tubo 3mm de tejido en 700µL de buffer de lisis de tejidos animales (10mM de Tris-HCl a pH 8.0, 100mM de EDTA (Ácido etileno amino tetra acético), 100mM de NaCl y SDS al 1%) con 7µL de proteinasa K. Las muestras se incuban a 56°C con agitación durante 24h; b) Extracción: las muestras son sometidas a un lavado con 250µL fenol y 250µL de cloroformo (diclorometano + isoamílico, 24:1) centrifugados por 10 minutos a 13200rpm. Se extrae el sobrenadante y se agregan 500µL de cloroformo y se centrifuga por 10 minutos a 13200rpm. El sobrenadante se extrae y se le agregan 700µL de alcohol frío al 100% y se deja precipitar toda la noche a 4°C. c) Obtención: Las muestras se centrifugan por 10 minutos a 13200rpm en una centrífuga refrigerada. Se decanta el alcohol cuidando no verter el botón de ADN. Se agregan 700µL de alcohol frío al 70% y se centrifuga por 10 minutos a 13200rpm. El alcohol se decanta nuevamente y el contenido de cada muestra se seca en una vacofuga o centrifuga con vacío. Las muestras se suspenden en 200µL de agua bidestilada.

5.3 Amplificación de microsatélites

Se hicieron pruebas de amplificación de siete microsatélites, cinco usados previamente en el pato de moteado (*Anas fulvigula*) (Williams *et al.* 2002, 2005): **Bcap6**, **Bcap11**, **Sfip2**, **Sfip4**, **JCC1**, y dos usados en el pato de collar: **Apl11** (Denk *et al.* 2004) y **Aph21** (Maak *et al.* 2003). La amplificación por medio de PCR se realizó en un volumen de reacción por muestra de 12.5µL con 25ng de ADN, buffer 1X, 200µM de dNTP, 0.1 µL taq polimerasa (Amplificasa UNAM), 0.4 µM de oligo forward y 0.4 µM de oligo reverse, 2.0 mM de MgCl₂ y agua bidestilada. Las condiciones para la amplificación consistieron de un ciclo de desnaturalización de 2 minutos a 94°C, seguido de 30 ciclos de 30 segundos a 94°C, temperatura de anillamiento por 30 segundos (**Bcap6**= 53°C; **Bcap11**= 55°C; **Sfip2**= 54°C; **Sfip4**= 54°C; **Apl11**= 61°C, **Aph21**= 60°C) y 72°C por 30 segundos, posteriormente un ciclo de extensión de 2 minutos a 72°C y mantenidos 4°C. El oligo forward de cada microsatelite estaba marcado con fluorescencia 6-FAM (**Bcap6**, **Bcap11**, **Sfip2**, **JCC1**, **Aph21**) y HEX (**Apl11**, **Sfip4**) para su observación en los electroferogramas.

Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 2%, teñidos con **10µg/µl** de bromuro de etidio y corridos en cámara de electroforesis por 30 minutos a 100volts. Se utilizó un marcador de peso molecular de 50pb ladder (TrackIt™ de Invitrogen) para determinar el tamaño de los fragmentos que aparecían en los geles. Los geles fueron observados en un transiluminador (Kodak) con el cual se obtuvo una fotografía para su análisis detallado.

5.4 Genotipificación

Para la tipificación de cada muestra, se hicieron diluciones 1:8 de los productos de PCR; 1µl de cada dilución fue mezclado con 9.7µl de formamida y 0.3µl de ROX 500 (Size estándar). Las muestras se ingresaron en un secuenciador de ADN (ABI 310, Biosystems) con un tiempo de inyección de 2", establecido con base a pruebas preliminares como el tiempo de inyección óptimo para acotar la expresión de los picos de los alelos a un máximo de 6000 unidades de fluorescencia y evitar que la expresión de los alelos saliera de la escala de fluorescencia óptima (Buttler 2005). Para la lectura de los electroferogramas se usó el software GeneMapper 3.7 para determinar el tamaño de los alelos y los genotipos de cada individuo.

GeneMapper es actualmente el software de genotipificación más usado debido al análisis robusto que realiza de diversos parámetros vinculados con la calidad de las muestras para garantizar resultados confiables. Tales parámetros son categorizados en el programa como Process Quality Values (PQV) que involucra a parámetros relacionados con la calidad en la designación del tamaño de los alelos y en la calidad del genotipo agrupados en dos categorías: PQV de la muestra y PQV del genotipo. Estos ayudan a encontrar y precisar problemas en la designación del tamaño de los alelos (size-calling), relacionados con la preparación y análisis de cada muestra. La evaluación de cada categoría de PQV es expresada por un código de banderas de tres colores: bandera de cuadro verde, que se expresa cuando no hay problemas con la muestra y la lectura es óptima; bandera de triángulo amarillo, cuando hay problemas de errores con el marcador de peso molecular (size standard) o error en la matriz; bandera de octágono rojo, cuando los resultados son de baja calidad no aceptables.

Cuando los resultados de determinación del tamaño alélico y el genotipo de cada muestra son acompañados por banderas amarillas y rojas, los resultados no son confiables y la muestra tiene que ser nuevamente preparada para su genotipificación.

Para la genotipificación de las muestras del presente estudio los PQV más comunes de mostrar errores fueron el OS (Off scale) que indicaba que la expresión de los picos del microsatélite rebasaba las 6000 unidades de fluorescencia, y el SQ (Sizing quality) que indicaba que no había ocurrido una correcta determinación del tamaño de los alelos relacionado con la calidad de la muestra del PCR. Ambos PQV forman parte de la categoría de PQV de la muestra.

5.5 Análisis genéticos

5.5.1 Diagnóstico de los datos moleculares

Previo a los análisis estadísticos moleculares se utilizó el programa MICRO-CHECKER 2.2.3. (Oosterhout *et al.* 2004) para detectar errores de genotipificación debido a errores tipográficos, presencia de stutter, alelos marginales (dropout) y la presencia de alelos nulos. Este programa discrimina si la presencia de alelos nulos es producto de endogamia, efecto Wahlund o por desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg. Si se detectan alelos nulos en las muestras, el programa calcula la frecuencia de los alelos nulos y hace un ajuste de las frecuencias alélicas observadas así como de las frecuencias genotípicas para utilizarse posteriormente en análisis de genética de poblaciones. El programa presenta 4 ajustes de las frecuencias alélicas que corresponden a los algoritmos 1 de Brookfield (1996), 2 de Brookfield (1996), Chakraborty *et al.* (1992) y Oosterhout *et al.* (En prep). Los 4 algoritmos tienen dos supuestos en común: 1) asumen panmixia en las muestras, y que 2) la deficiencia de heterocigos es debida únicamente a la presencia de alelos nulos. La elección del algoritmo más apropiado para las muestras analizadas se hace con base en la clave del estimador nulo apropiado propuesta por Oosterhout *et al.* (2004) que se muestra en el anexo 1.

Los análisis se corrieron con intervalo de confianza de 99% y 10,000 iteraciones. En el caso de locus con presencia de alelos nulos, se calculó la frecuencia alélica y se ajustaron los genotipos utilizando el algoritmo 1 de Brookfield (1996).

La desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg se calculó para cada locus, población y total con el programa GenePOP v. 4.0 (Raymond y Rousset 1995) con 10,000 desmemorizaciones, 100 batches y 10,000 iteraciones por batche. El programa realiza el análisis mediante la prueba exacta de Hardy-Weinberg (Haldane 1954, Guo y

Thompson 1992) usando cadenas de Markov para estimar sin sesgo el valor exacto de probabilidad de acuerdo con Guo y Thompson (1992), e indica si la desviación es producto de déficit de heterocigos o por exceso de heterocigos a través del estimador F_{IS} de Weir and Cockerham (1984).

Con el programa FreeNA (Chapuis y Estoup 2007), se probó la existencia de un efecto significativo de alelos nulos a través del método ENA (Chapuis y Estoup 2007), que calcula los valores de F_{ST} de acuerdo con Weir (1996) en datos de microsatélites que contienen alelos nulos. El método ENA calcula valores apropiados de F_{ST} al corregir el sesgo positivo inducido por la presencia de alelos nulos. Para conocer el efecto de los alelos nulos en el total de la muestra, el programa calcula el valor de F_{ST} asumiendo la presencia de alelos nulos (con ENA) y F_{ST} sin presencia de alelos nulos (sin ENA).

Asimismo, con el programa GenePOP v. 4.0 (Raymond y Rousset 1995) se realizó el análisis de desequilibrio de ligamiento a través de la prueba exacta de Fisher usando cadenas de Markov. El programa fue corrido empleando 1,000 desmemorizaciones, 100 batches y 1,000 iteraciones por batche.

Para obtener los valores de significancia tanto de los análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg como de las pruebas de desequilibrio de ligamiento, se aplicó la prueba secuencial de Bonferroni (Rice 1989) con una probabilidad de significancia del 95%.

5.5.2 Diversidad genética

Para efectos de disponer de un escrutinio detallado de la diversidad genética, se calculó la frecuencia alélica por locus y población a partir de la cual se determinó el número de alelos por locus y el número de alelos por población; además para cada población se calculó el promedio de la riqueza alélica observada (A), la frecuencia de alelos raros (frecuencia < 0.1 , Luikart *et al.* 1998) así como la heterocigosis observada (H_o) y la heterocigosis esperada (H_E). De los parámetros mencionados, la heterocigosis esperada es la medida de diversidad genética más utilizada en estudios poblacionales de especies diploides (Hedrick 2005).

Las frecuencias alélicas por locus y población se calcularon con el programa FSTAT 2.9.3 (Goudet 2001) mientras que la heterocigosis observada y esperada por

población se calculó a partir del estimador de Nei (1987) con el uso del programa ARLEQUIN 3.0 (Excoffier *et al.* 2005).

La riqueza alélica por población definida como el promedio de alelos por locus se estimó sin considerar el tamaño de muestra de cada población (A) con el programa FSTAT 2.3.9 (Goudet 2001), así como la riqueza alélica con el método de rarefacción (A_r) mediante el programa HP-RARE (Kalinowski *et al.* 2006), el cual evita el sesgo por efecto de la variación en el tamaño de muestra de cada población.

5.5.3 Diferenciación poblacional

La diferenciación poblacional es estimada a través del cálculo de los coeficientes F_{ST} y R_{ST} . Tradicionalmente, F_{ST} ha sido el estadístico más ampliamente usado para estimar la diferenciación poblacional en marcadores nucleares. El coeficiente F_{ST} forma parte de los coeficientes F de Wright (1951) que proveen información de cómo se encuentra distribuida la variación genética entre y dentro de las subpoblaciones, y en la población total, en lo que se denomina niveles de estructuración (Hedrick 2005, Allendorf y Luikart 2007). F_{ST} es el coeficiente de mayor peso para la diferenciación poblacional y también se nombra índice de fijación e indica el grado de divergencia *entre subpoblaciones*. Se define como la probabilidad de que dos alelos extraídos al azar de una subpoblación sean idénticos por estado (tamaño) y está asociado al flujo génico, ya que la probabilidad aumenta o disminuye si el flujo génico es alto o bajo, respectivamente (Frankham *et al.* 2002). El valor de F_{ST} puede ser de 0 a 1; cuando el valor es cercano a cero indica que las subpoblaciones son genéticamente iguales y no hay diferenciación poblacional, empero cuando el valor es cercano a 1, indica diferenciación genética poblacional (Hedrick 2005, Templeton 2006, Allendorf y Luikart 2007).

Debido a que los microsatélites tienen altas tasas de mutación (1×10^{-3} ; Weber y Wong 1993), los valores de F_{ST} son altamente sesgados pues el modelo de estimación de F_{ST} asume que la mutación es baja.

Los otros coeficientes F son el F_{IS} y el F_{IT} . El coeficiente F_{IS} indica la reducción de la heterocigosis producto de apareamientos no azarosos *dentro de las subpoblaciones* por lo que también se le denomina índice de endogamia (F). Este puede tener valores positivos o negativos que se expresan como deficiencia o exceso de heterocigos, respectivamente (Hedrick 2005, Templeton 2006, Allendorf y Luikart 2007). El

coeficiente F_{IT} indica la reducción de la heterocigosis en la *población total*, debido al efecto combinado de la endogamia (F_{IS}) y la deriva génica (F_{ST}). El coeficiente F_{IT} también puede tener valores positivos o negativos (Hedrick 2005, Templeton 2006, Allendorf y Luikart 2007).

Análogo al coeficiente F_{ST} existe el estimador R_{ST} , que es la medida de diferenciación poblacional más recomendada cuando se utilizan microsatélites debido a que se ajusta al modelo de mutación de pasos (SMM) y su valor se obtiene de la varianza en el tamaño de los alelos (Slatkin 1995). A pesar de ello, las estimaciones de R_{ST} tienen alta varianza asociada a la estimación de los tamaños alélicos, que genera un sesgo significativo. Asimismo, también puede presentar sesgo cuando los microsatélites no se ajustan al modelo de mutación de paso a paso (SMM), pues se conoce que los microsatélites pueden desviarse significativamente del modelo ideal de SMM (Balloux *et al.* 2000, Ellegren 2000).

Dados los inconvenientes de cada estimador, F_{ST} y R_{ST} , para conocer cuál de los dos sería el más apropiado de utilizar con los datos genotípicos generados para el pato mexicano, se realizó la prueba de permutación del tamaño alélico con el programa SPAGeDi 1.3 (Spatial Pattern Analysis of Genetic Diversity; Hardy y Vekemans 2002). A través de este programa es posible caracterizar la estructura genética espacial de poblaciones muestreadas a partir del uso de genotipos, estimando la diferenciación poblacional mediante el cálculo de F_{ST} y/o R_{ST} . La prueba de permutación del tamaño alélico permite determinar si el tamaño de los alelos de los microsatélites provee información relevante sobre la estructura genética (Hardy *et al.* 2003). La prueba se desarrolla bajo la hipótesis nula (H_0) de que no existe contribución de las mutaciones de paso a paso en la diferenciación genética ($R_{ST}=F_{ST}$) vs la hipótesis alternativa (H_a) $R_{ST}>F_{ST}$. La prueba se basa en el principio de aleatorización por el cual los tamaños alélicos de cada locus son azarosamente permutados entre los estados alélicos, generando un valor esperado de R_{ST} denominado pR_{ST} (permutación del tamaño alélico) (Hardy *et al.* 2003).

La validación de la H_0 está sujeta a la comparación del valor observado de R_{ST} vs el valor de pR_{ST} . Si la prueba no es significativa ($R_{ST}=F_{ST}$), el tamaño alélico no es informativo de la diferenciación poblacional, ya sea porque la mutación no contribuye a la diferenciación o porque el proceso de mutación no es similar al de paso a paso, por lo que F_{ST} puede ser usado. Por otro lado, si la prueba es significativa ($R_{ST} > pR_{ST}$), la

mutación contribuye a la diferenciación genética y por lo tanto R_{ST} puede ser usada (Hardy *et al.* 2003).

La prueba se corrió dos ocasiones, una calculando F_{ST} y otra calculando R_{ST} , usando 10,000 permutaciones. El R_{ST} calculado no fue significativamente diferente de pR_{ST} ($p = 0.292$) y por lo tanto F_{ST} es el estimador más apropiado para usarse con los datos.

Los valores de F_{ST} fueron calculados por pares de subpoblaciones con el programa FSTAT 2.9.3 (Goudet 2001) con el método de Weir y Cockerham (1984), ya que los parámetros que calcula son equivalentes a los coeficientes F de Wright y no son afectados por los tamaños de muestra de cada subpoblación, número de subpoblaciones muestreadas y el número de alelos por locus (Cockerham 1973, Weir y Cockerham 1984). Los parámetros calculados por el método de Weir y Cockerham son F , que es la correlación entre pares de alelos dentro de cada individuo en la población total y es análogo a F_{IT} ; Θ que mide la correlación entre pares de genes entre individuos dentro de la población y es análogo a F_{ST} ; y f que mide la correlación de genes dentro de los individuos de cada subpoblación y es análogo a F_{IS} .

Para conocer cómo se encuentra distribuida la variación genética total, es decir de todas las subpoblaciones y loci, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) con el programa ARLEQUIN 3.0 (Excoffier y Laval 2005). La prueba provee información sobre la distribución de variación genética entre tres niveles de estructuración ecológica: a) entre subpoblaciones, b) dentro de cada subpoblación, c) dentro de los individuos en el total de la población.

Complementariamente, se calculó la distancia genética estándar de Nei corregida para el tamaño de muestra (D_{ST}) (Nei *et al.* 1983) con el programa MSA (Dieringer y Schlötterer 2003) con 10,000 bootstraps y a partir de la matriz de distancias genéticas obtenida, se construyó un árbol del vecino más cercano (neighbor-joining) con el programa Phylip 3.66 (Felsenstein 1989).

5.5.4 Estructura genética poblacional

Se usó el programa STRUCTURE 2 (Pritchard *et al.* 2000) que utiliza métodos Bayesianos para inferir la estructura genética de la población y explorar la asignación de individuos a cada población. Se realizaron simulaciones variando el número de grupos poblacionales (K) de 1 a 10, usando un modelo mezclado (admixture model)

con información acerca de las poblaciones (localidad de muestreo) y frecuencias alélicas independientes ante el supuesto de que la especie no es migratoria. Las simulaciones se corrieron con periodo de burnin de 10,000 iteraciones en igual número de iteraciones de cadenas de Markov Monte Carlo. El análisis se repitió 5 ocasiones para cada simulación de K para asegurar consistencia en los resultados.

Para determinar el número de grupos poblacionales se utilizó el método gráfico de Evanno *et al.* (2005) basado en la tasa de cambio de la función de verosimilitud con respecto a K (ΔK). Los valores de ΔK son calculados a partir del valor promedio de verosimilitud, $L(K)$, de las 5 corridas para cada K . Con los valores de $L(K)$ se calcula la tasa de cambio de primer y segundo orden, $L'(K)$ y $L''(K)$ respectivamente, como la diferencia entre valores sucesivos de $L(K)$ y $L'(K)$, respectivamente. Finalmente los valores de ΔK , se obtienen por el cociente de la media de $|L''(K)|$ por la desviación estándar de $L(K)$ (Evanno *et al.* 2005). El K real es determinado por la altura del valor modal de la distribución de ΔK , como indicador de la intensidad de la señal detectada por el programa (Evanno *et al.* 2005).

5.5.5 Flujo génico

El flujo génico se calculó determinando la tasa de migración por generación entre pares de poblaciones (y el tamaño efectivo de la población) a través del estimador de Máxima Verosimilitud (MLE) con el programa MIGRATE 2.3 (Beerli y Felsenstein 2001). Este programa permite calcular la tasa de migración ancestral con el método de coalescencia. Para estimar la tasa de migración, el programa calcula dos parámetros; Θ que es el producto del tamaño efectivo de la población por la tasa de mutación por sitio por generación ($N_e\mu$), y M que es el cociente de la tasa de inmigración entre la tasa de mutación (m/μ).

Para llevar a cabo el análisis, se realizó una corrida inicial para obtener los parámetros iniciales de Θ y M (Beerli y Felsenstein 2001, Beerli 2004, 2006) a partir de los valores de F_{ST} y que posteriormente fueron utilizados en el análisis definitivo. El cálculo de los parámetros iniciales es trascendental para el análisis de flujo génico ya que valores iniciales de "cero" no son buenos pues podrían proporcionar estimaciones erróneas (Beerli 2008).

El análisis se realizó empleando el modelo de datos Brownian-motion que es una aproximación del modelo de mutación de paso a paso para microsatélites

(stepwise mutation), tasa de mutación constante pues todos los locus utilizados son dinucleótidos, y bajo el modelo general de migración que permite que todos los parámetros iniciales varíen independientemente. El análisis se corrió usando 20 cadenas cortas de Markov Monte Carlo, 25,000 árboles muestreados, 500 árboles registrados y 1 cadena larga con 10,000 iteraciones de burn-in. Las mismas condiciones fueron empleadas para la segunda corrida incluyendo 4 cadenas de calentamiento (heating) con temperatura de 1, 1.5, 3.0 y 6.0 e intervalo de cambio de 5, con el propósito de efectuar una exploración más eficiente de los datos, incrementando el número de genealogías muestreadas y establecer correctos intervalos de confianza (Beerli 2008).

Los resultados de las estimaciones de flujo génico, corresponden a los valores de la mediana, que es más recomendable para evitar el sesgo de valores extremos y reduce la varianza (Beerli 2008).

5.5.6. Cuellos de botella poblacionales

Para conocer si las subpoblaciones han pasado por cuellos poblacionales recientes, se utilizó el programa Bottleneck 1.2.02 (Cornuet y Luikart 1996). La base teórica del programa se fundamenta en que en poblaciones que han experimentado un cuello de botella reciente exhiben una más rápida reducción de la diversidad alélica que la reducción de la heterocigosis. Bajo un escenario de cuellos de botella reciente, la heterocigosis será mayor que la diversidad alélica (heterocigosis excesiva); la situación inversa llamada heterocigosis deficiente, indicaría crecimiento de la población (Cornuet y Luikart 1996).

Con base en lo anterior, para identificar cuellos de botella recientes, el programa efectúa simulaciones de procesos de coalescencia computando la distribución de la heterocigosis esperada de cada población muestreada y de cada locus y del número de alelos observados, bajo el supuesto de equilibrio mutación-deriva génica y los compara entre si. Porque los microsátélites no siempre se ajustan al modelo de mutación de paso a paso (SMM), las simulaciones pueden realizarse bajo tres modelos de mutación, el modelo de mutación de alelos infinitos (IAM), modelo de mutación de paso a paso (SMM) y el modelo de mutación de dos fases (TPM). El programa permite elegir el tipo de modelo de mutación con el cual hacer las pruebas, sin embargo, los autores sugieren que las pruebas se realicen con los tres modelos de

mutación simultáneamente, aunque recomiendan el modelo TPM porque la mayoría de los microsatélite se ajustan mejor este modelo que a los otros dos.

Se hizo un análisis considerando los dos grupos o poblaciones genéticas determinadas por las evaluaciones de estructura y diferenciación poblacional, con la finalidad de aumentar el tamaño de muestra, ya que el poder estadístico de la prueba es mayor cuando el tamaño de muestra es mínimo de 30 individuos y a partir de 5 loci (Cornuet y Luikart 1996). No obstante, también se realizaron análisis por subpoblaciones. Todos los análisis se corrieron con 10,000 iteraciones usando los tres modelos de mutación, asignando un nivel de variación de 30% al modelo TPM y 7% al modelo SMM.

El programa provee tres pruebas estadísticas para determinar la existencia de cuellos de botella (exceso de heterocigosis), cuyo poder estadístico está relacionado con el número de loci y el tamaño de muestra: prueba del signo, prueba de diferencias estandarizadas y prueba de Wilcoxon (Luikart *et al.* 1998). Para el presente estudio se utilizaron los datos de la prueba de Wilcoxon, ya que tiene un poder relativamente alto y puede usarse con un número bajo de loci y pequeños tamaños de muestra (15 individuos por muestra) (Cornuet y Luikart 1996).

5.6 Análisis morfométrico

Se realizó una comparación morfométrica entre las poblaciones mencionadas considerando caracteres como el ancho y largo del culmen, longitud del tarso, longitud y ancho de la cabeza, longitud del ala derecha, así como tamaño (longitud pico-cola). Con el fin de saber si existen diferencias entre los sexos para cada variable morfológica se aplicaron pruebas de "U" de Mann-Whitney debido a la diferencia en el número de muestras por sexo así como al tamaño pequeño de las mismas.

Se aplicaron pruebas de Kruskal-Wallis para comparar cada variable morfológica entre poblaciones con el objetivo de explorar si dichas variables podrían diferenciar poblaciones. Para las variables en las que se encontraron diferencias significativas entre poblaciones, se realizaron pruebas de comparación múltiple de Tukey (HSD). Finalmente, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) a partir de matriz de covarianza como técnica de agrupación para reconocer "grupos poblacionales" que den indicio de una posible estructura poblacional y determinar cuáles son las variables morfológicas causales de la posible agrupación.

VI. Resultados

6.1 Colecta

El número de individuos colectados varió entre sitios en un rango de 3 a 20 y promedio de 10.4 individuos (Cuadro 1). Debido a que el tamaño de muestra de las subpoblaciones de Cuitzeo, Chapala y Zacatecas fue pequeño, las dos primeras se agruparon para conformar una sola subpoblación denominada Bajío, en tanto que las muestras de Zacatecas se adicionaron a las muestras de Laguna Mexicanos conformando una sola subpoblación denominada Altiplano Norte.

El 83.5% de los individuos colectados correspondieron a adultos, 12.3% a jóvenes menores de un año y 4.1% a crías de una semana de edad que correspondieron a polluelos encontrados muertos en las Ciénegas del Lerma (Tabla 1).

Cuadro 1. Número de patos mexicanos colectados por sitio por clases de edad. ♂ = Machos, ♀ = hembras

Edad/Sub población	Ciénegas del Lerma		Tecocomulco		Atlangatepec		Bajío				Altiplano Norte				TOTAL	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	Cuitzeo		Chapala		Zacatecas		Lag. Mexicanos		♂	♀
Adultos	4	9	7	8	10	6	2	1	5		2	3	3		33	27
Juveniles	4				1								1	4	6	4
Crías		3														3
TOTAL	19		15		17		3		5		5		8		73	

En todos los sitios de colecta, los humedales fueron de tipo léntico, excepto en Tlaxcala donde también se colectó en una parte del efluente de la presa Atlangatepec que tiene corriente permanente y en donde los patos pasaban la mayor parte del día congregados en decenas de individuos posados en tierra firme a los márgenes del efluente en sitios con tulares.

En todos los casos, los patos fueron encontrados y colectados en sitios con alta densidad de vegetación emergente en al menos tres tipos de composiciones vegetales: 1) Sitios con alta densidad de vegetación emergente constituida de tulares (*Schoenoplectus sp*) y/o tule palma (*Typha sp*); 2) sitios con vegetación combinada de tulares y vegetación acuática libre flotante como lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) y/o tamborcillo (*Hydromystria laevigata*); 3) vegetación combinada de tulares y polygonaceas (vegetación acuática enraizada emergente). Estas condiciones ambientales fueron comunes en los humedales del Centro, sin embargo fueron escasos en el Lago de Chapala, restringiéndose a una pequeña porción del humedal en la zona

sur-este a partir de donde desemboca el Río Lerma hacia el sur por la margen del humedal.

En el caso de los humedales de Zacatecas, la presencia de vegetación acuática, en cualquiera de sus formas de vida, fue nula o escasa. La mayoría de los humedales visitados en el valle de Fresnillo y Valparaíso carecían de vegetación acuática y manifestaban turbidez, siendo este el posible factor causal que impide el desarrollo de plantas acuáticas. En algunos humedales ubicados en el pie de monte de la serranía de Valparaíso se observaron plantas acuáticas enraizadas sumergidas como la grama (*Potamogeton* sp), *Najas* sp, y enraizadas flotadoras como hoja de pescado (*Nymphoides fallax*), principalmente en la entrada de los afluentes y en las márgenes someras de los humedales.

6.2 Análisis Genéticos

6.2.1 Amplificación de microsatélites y diagnosis de los datos moleculares

Se amplificaron seis de los siete marcadores microsatélites pre-establecidos. El microsatélite JCC1 no se logró amplificar aún cuando se corrió bajo varias condiciones de PCR. Los seis locus amplificados fueron polimórficos excepto el locus Bca μ 11 que fue monomórfico para las subpoblaciones de Tecocomulco y Bajío (Anexo 4). No se encontró un alelo intermedio en los locus Sfi μ 2 y ApL11, dos para el locus Sfi μ 4 y tres para el locus Aph21. Coincidentemente, la falta de alelos intermedios ocurrió en los locus más polimórficos y el número de alelos faltantes incrementó con el polimorfismo.

De acuerdo con los análisis realizados en MicroChecker, no hubo errores de genotipificación debido a stutter ni a alelos marginales (allelic dropout). La presencia de alelos nulos se detectó para el locus Sfi μ 2 en las subpoblaciones de Tecocomulco y Ciénegas del Lerma así como en el locus Bca μ 6 en la subpoblación Altiplano Norte. Para cada uno de esos locus y subpoblaciones se obtuvieron los genotipos ajustados utilizando el algoritmo 1 de Brookfiel (1996).

Al analizar los valores de F_{ST} estimados con ENA ($F_{ST} = 0.0540$) y sin ENA ($F_{ST} = 0.0582$), no se encontró diferencia significativa entre ambas, ya que los valores medios de cada una se ubican dentro del intervalo de confianza del otro estimado, por lo tanto la presencia de alelos nulos en la muestra total no es de consideración.

Considerando los datos de todas las subpoblaciones, los análisis de Hardy-Weinberg por cada loci determinaron desviación significativa para los loci Sfiμ2 ($p = 0.0002$), Apl11 ($p = 0.007$) y Aph21 ($p = 0.0013$). Estos locus manifestaron valores positivos de F_{IS} indicando que la desviación se debe a deficiencia de heterócigos (Cuadro 2).

Los análisis de Hardy-Weinberg por población indicaron que 3 de las 5 subpoblaciones (Tecocomulco, Ciénegas del Lerma y Altiplano Norte) presentaron desviación significativa del equilibrio ($p < 0.05$) (Cuadro 4). Para cada subpoblación, los estadísticos F mostraron altos valores de F_{IS} (0.138 a 0.296), sugiriendo deficiencia de heterócigos o endogamia. Asimismo, el análisis de todos los locus y todas las subpoblaciones manifestó desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 121.20$, g.l. 52, $p = 0.000$).

No se encontraron evidencias significativas de desequilibrio de ligamiento entre pares de locus en cada subpoblación, ni entre pares de locus para todas las subpoblaciones ($p > 0.05$, Anexo 3).

Cuadro 2. Resultados de la prueba exacta de Guo y Thompson (1992) del equilibrio de Hardy-Weinberg por locus para 5 subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

	No. Alelos	HO	HE	χ^2	g.l	p	FST	FIS	FIT
Bcaμ6	4	0,21	0,29	12,56	8	0,1278	0,273	0,242	0,449
Sfiμ2	7	0,493	0,72	33,19	10	0,0003	0,027	0,33	0,348
Sfiμ4	9	0,41	0,496	16,78	10	0,0792	0,016	0,129	0,115
Apl11	13	0,663	0,79	24,25	10	0,007	0,05	0,148	0,191
Aph21	15	0,692	0,876	28,71	10	0,0014	0,01	0,216	0,208
Bcaμ11	3	0,08	0,101	5,61	4	0,2299	0,034	0,196	0,224
							0,249	0,045	0,214

Cuadro 4. Resultados de la prueba exacta de Guo y Thompson (1992) del equilibrio de Hardy-Weinberg por subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

Subpoblación	Locus						
	Bcaμ6	Sfiμ2	Sfiμ4	Apl11	Aph21	Bcaμ11	Media
Atlangatepec							
n	17	17	17	17	17	17	17
HWE desviacion	1	0,172	0,42	0,512	0,081		0,313
Fis	-0,103	0,249	0,049	0,115	0,186		0,138
Tecocomulco							
n	15	15	15	15	15	15	15
HWE desviacion	1	0,005**	0,366	0,085	0,037**		0,007**
Fis	-0,037	0,433**	0,079	0,107	0,318**		0,233
Ciénegas del Lerma							
n	20	20	20	20	20	20	20
HWE desviacion	0,391	0,005**	0,48	0,038**	0,128	1	0,018**
Fis	0,227	0,571**	-0,027	0,293**	0,138	-0,03	0,202
Bajío							
n	8	8	8	8	8	8	8
HWE desviacion		0,598	0,08	0,013**	0,677		0,051
Fis		0,195	0,4	0,528**	0,142		0,296
Altiplano Norte							
n	13	13	13	13	13	13	13
HWE desviacion	0,006**	0,007**	0,038**	0,18	0,005**	0,055	0,000**
Fis	0,563**	0,211**	0,342**	-0,159	0,299**	0,333	0,223

** p<0,05

6.2.2 Diversidad genética

Se obtuvo un total de 51 alelos de entre todos los loci analizados. El número total de alelos por locus tuvo un rango de 3 (Bcaμ11) a 15 (Aph21) (Cuadro 2). El número total de alelos por subpoblación fue similar entre las subpoblaciones con un promedio de 33.4 alelos/subpoblación. La subpoblación con el mayor número de alelos registrados fue Ciénegas del Lerma (n= 39) en tanto que el menor número de alelos se registro para la subpoblación del Bajío (n= 26) (Cuadro 3).

El análisis de las frecuencias alélicas de cada locus mostró que 15 de 51 alelos totales ocurren en todas las subpoblaciones y el número promedio de alelos compartidos entre pares de subpoblaciones es de 24.9. Se detectó variación en la distribución de las frecuencias alélicas de cada locus entre subpoblaciones, identificando que los alelos predominantes (de mayor frecuencia) de cada locus difirieron entre subpoblaciones, con excepción de los alelos 137 y 130 de los locus Sfiμ4

y Bcaµ11 respectivamente, que fueron predominantes en todas las subpoblaciones con frecuencia alélica mayor a 0.6. Para los otros locus se observó que el alelo predominante en una subpoblación puede tener una frecuencia alélica más baja en las otras subpoblaciones (Anexo 2).

Las frecuencias de heterócigos y homócigos fueron distintas en cada locus. La frecuencia de heterócigos fue ostensiblemente menor en los locus Bcaµ6, Sfiµ4 y Bcaµ11, mientras que en los locus Apl11 y Aph21 la frecuencia de heterócigos fue mayor que la frecuencia de homócigos (Anexo 4). La frecuencia de heterócigos fue ligeramente menor que la frecuencia de homócigos en el locus Sfiµ2.

La riqueza alélica por subpoblación de acuerdo con el análisis de rarefacción fue en promedio de 4.55 (d.e = 0.33). La mayor riqueza alélica se presentó en la subpoblación Altiplano Norte (5.03) y la menor riqueza en la subpoblación Atlangatepec (4.17) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Número total de alelos por subpoblación (N_A), Riqueza alélica (A), Riqueza alélica con el método de rarefacción (A_r), número de alelos privados (No. A.P.), heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada (H_E) y F_{IS} promedio de los seis locus analizados en 5 subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

Población	N_A	A	A_r	No A.P.	H_o (d.e)	H_E (d.e)	F_{IS}
Tecocomulco (N=15)	34	4.61	4.59	1	0.405 (0.25)	0.528 (0.35)	0.233
Atlangatepec (N=17)	33	4.16	4.17	1	0.421 (0.23)	0.487 (0.29)	0.138
Ciénegas del Lerma (N=19)	39	4.75	4.66	1	0.417 (0.22)	0.539 (0.27)	0.202
Bajío (N=8)	26	4.33	4.33	0	0.375 (0.26)	0.522 (0.33)	0.296
Altiplano Norte (N=13)	35	5.03	5.03	5	0.504 (0.25)	0.652 (0.19)	0.223

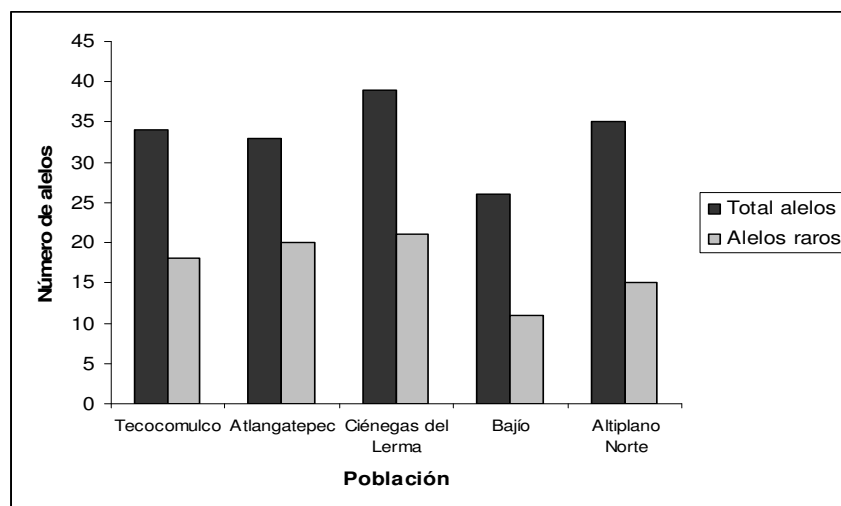
La diversidad genética representada como la heterocigosis esperada (H_E) fue mayor que la heterocigosis observada (H_o) en cada subpoblación. La diversidad genética promedio fue de 0.545 (d.e = 0.06), siendo la subpoblación Altiplano Norte la de mayor diversidad genética (0.652, d.e = 0.19), seguida de Ciénegas del Lerma (0.539, d.e = 0.27), y la menor diversidad genética ocurre en la subpoblación de Atlangatepec (Cuadro 3). La heterocigosis total que incluye todas las subpoblaciones y todos los locus fue de 0.579.

En total se encontraron ocho alelos privados (Anexo 2). El mayor número de alelos privados ocurrió en la subpoblación del Altiplano Norte (n=5) en los locus Bcaµ6 (n=2), Sfiµ4 (n=1), Apl11 (n=1) y Bcaµ11 (n=1). Un alelo privado ocurrió en las

subpoblaciones de Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma en los locus *Apl11*, *Sfiu4* y *Aph21*, respectivamente. No se registraron alelos privados para la subpoblación del Bajío (Cuadro 3). Tres de los 8 alelos privados tuvieron frecuencias alélicas mayores a 0.1, todos ocurriendo en la subpoblación Altiplano Norte (Anexo 2). Los valores del coeficiente de endogamia (F_{IS}) para cada subpoblación son positivos y significativos ($p = 0.0016$) sugiriendo deficiencia de heterocigos.

El número promedio de alelos raros (frecuencia alélica < 0.10 ; Luikart *et al.* 1998) por subpoblación fue de 17 alelos. Para los casos de Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma la proporción de alelos raros fue mayor al 50% del total de alelos reportados para cada subpoblación y menor para las subpoblaciones del Bajío y Altiplano Norte (Figura 3, Anexo 5).

Figura 3. Alelos raros por subpoblación de estudio del pato mexicano *Anas diazi*.



6.2.3 Diferenciación poblacional

Los valores de diferenciación poblacional F_{ST} fueron de bajos a intermedios, ocurriendo en un intervalo de -0.0024 a 0.1289 (Cuadro 5). Los valores de F_{ST} indicaron diferenciación genética significativa de entre 11.9 y 12.8% entre la subpoblación Altiplano Norte y las subpoblaciones de Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma. El valor de F_{ST} para Bajío vs Altiplano Norte fue 0.1024 pero no fue significativo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Valores de F_{ST} entre 5 subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

	Tecocomulco	Atlangatepec	Ciénegas del Lerma	Bajío	Altiplano Norte
Tecocomulco					
Atlangatepec	0.0141				
Ciénegas del Lerma	0.0000	0.0000			
Bajío	0.0000	0.0000	0.0000		
Altiplano Norte	0.1289**	0.1280**	0.1192**	0.1024	

** $p < 0.05$, * $p < 0.01$

El análisis de varianza molecular (AMOVA) con valores de F_{ST} indicó que la mayor variación genética ocurre dentro de los individuos ($F_{IT} = 80.09$), seguida de la variación entre individuos dentro subpoblaciones ($F_{IS} = 14.64$), mientras que la menor variación genética ocurre entre subpoblaciones ($F_{ST} = 5.25$) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Resultados de AMOVA para 5 subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Varianza de los componentes	Porcentaje variación	Índice Fijación
Entre subpoblaciones	17.402	0.091	5.258	$F_{ST} = 0.0525$ ($p < 0.05$)
Entre individuos dentro de las subpoblaciones	124.035	0.252	14.643	$F_{IS} = 0.1545$ ($p < 0.05$)
Dentro de los Individuos	97.500	1.382	80.097	$F_{IT} = 0.1990$ ($p < 0.05$)
Total	238.937	1.726		

La distancia genética promedio entre subpoblaciones fue de 0.21 (d.e = 0.12) con un rango entre 0.05 a 0.378. Las menores distancias genéticas se manifestaron entre las subpoblaciones de Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma con valores menores de 10%. La distancia genética individual de estas tres subpoblaciones respecto a la subpoblación del Bajío osciló entre el 15% y 22%, aumentando gradualmente con la distancia geográfica (Cuadro 7). La subpoblación Altiplano Norte es la más alejada genéticamente del resto de las subpoblaciones con distancias genéticas mayores al 30%.

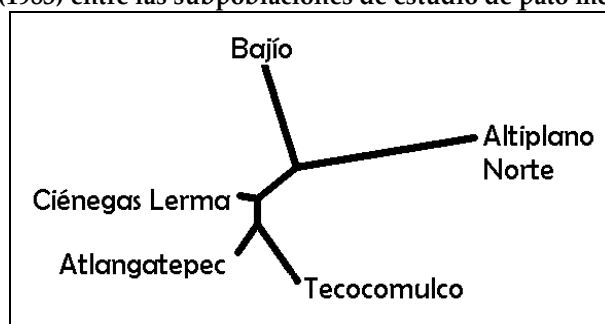
Resultados análogos fueron mostrados por el análisis del vecino más cercano (neiborg-joining). En principio los resultados denotan claramente que cada subpoblación es genéticamente independiente (cada subpoblación está representada por una rama del árbol), no obstante, las subpoblaciones Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma están más cercanas entre si indicando que son genéticamente más parecidas (Figura 4). La subpoblación Altiplano Norte es la que presenta una mayor

disimilitud genética respecto al resto de las subpoblaciones, mientras que la subpoblación Bajío tiene una similitud genética intermedia entre el resto de las subpoblaciones (Figura 4).

Cuadro 7. Distancias genéticas de Nei et al. (1983) entre cada par de subpoblaciones del pato mexicano *Anas diazi*.

	<u>Tecocomulco</u>	<u>Atlangatepec</u>	<u>Ciénegas del Lerma</u>	<u>Bajío</u>	<u>Alt. Norte</u>
Tecocomulco					
Atlangatepec	0.0622				
Ciénegas del Lerma	0.0745	0.0522			
Bajío	0.22	0.1765	0.1523		
Alt. Norte	0.3522	0.3383	0.3186	0.3783	

Figura 4. Árbol del vecino más cercano (Neiborg-Joining) sin raíz representa la distancia genética de Nei et al. (1983) entre las subpoblaciones de estudio de pato mexicano *Anas diazi*.



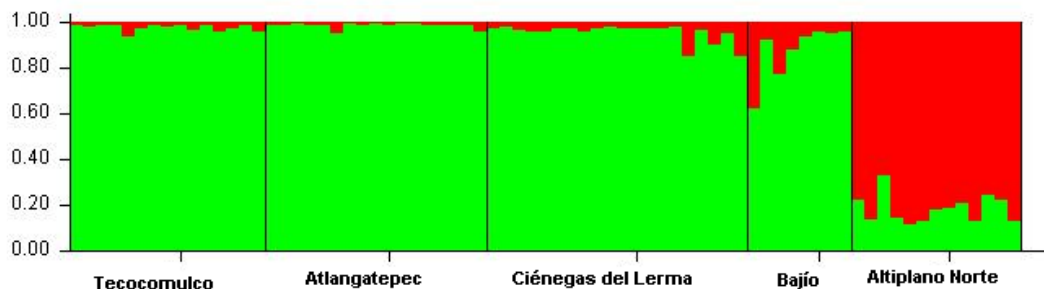
6.2.4 Estructura de la población

Los resultados de Structure de acuerdo con las pruebas de Evanno *et al.* (2005) indicaron que la población está conformada por dos grupos genéticos (K=2; figura 5). El grupo 1 conformado por las subpoblaciones de Tecocomulco, Atlangatepec, Ciénegas del Lerma y Bajío, mientras que el grupo 2 está conformado por la subpoblación Altiplano Norte. La asignación de individuos a estos grupos fue consistente con los resultados de diferenciación poblacional F_{ST} que separa a la subpoblación Altiplano Norte del resto de las subpoblaciones (Figura 6).

La probabilidad de asignación de los individuos al grupo 1 fue mayor al 95% para las subpoblaciones de Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma, y del 87.9% para la subpoblación del Bajío. La probabilidad de asignación de los individuos de la subpoblación del Altiplano Norte al grupo 2 fue de 81.4% (Cuadro 8). Del total de

individuos colectados el 83% de los individuos fueron asignados al grupo 1 y el 17% al grupo 2.

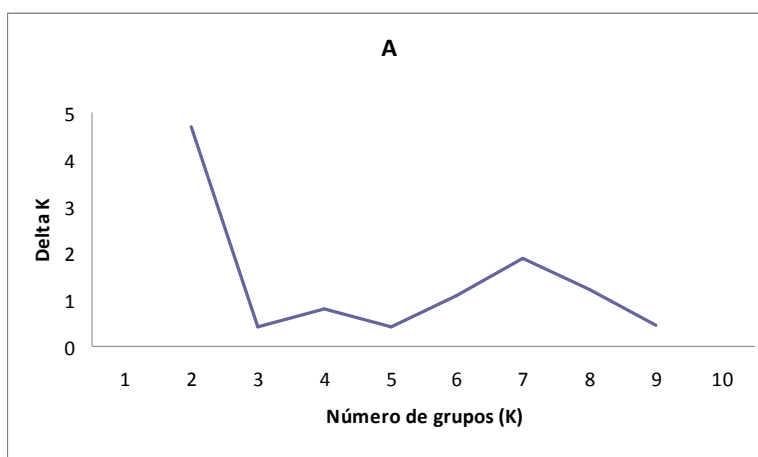
Figura 6. Resultados de la estructuración poblacional y la asignación de individuos a los grupos determinados por el programa Structure. Las barras dentro de cada columna correspondiente a cada subpoblación, representan un individuo muestreado. Subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

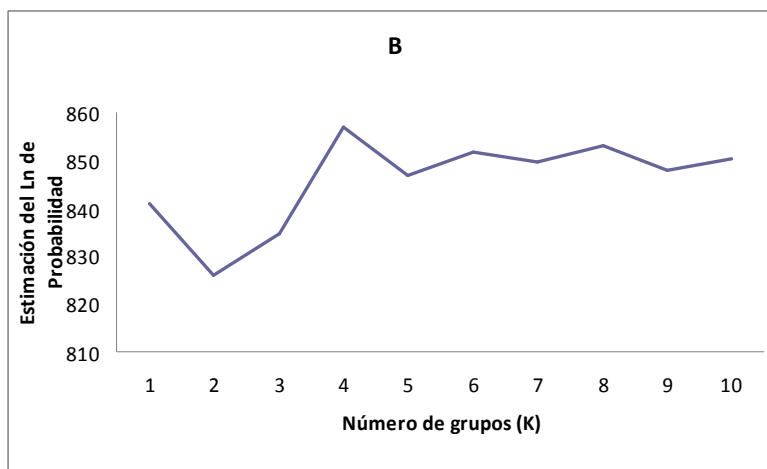


Cuadro 8. Probabilidad de asignación de los individuos de cada subpoblación a cada uno de los grupos determinados por el programa Structure. Subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

Población	Grupo 1	Grupo 2
Tecocomulco	0.978	0.022
Atlangatepec	0.987	0.013
Ciénegas del Lerma	0.957	0.043
Bajío	0.879	0.121
Altiplano Norte	0.186	0.814

Figura 5. Número estimado de grupos (K) a partir del programa Structure. (A) Tasa de cambio en los valores del Log de verosimilitud para estimar el número de grupos de acuerdo con Evanno et al. (2005). El pico máximo indica el número más probable de grupos. (B) Valores del log de verosimilitud para estimar el número de grupos (Pritchard et al. 2000). Un valle en los valores de verosimilitud indica el número más probable de grupos. Subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.





6.2.5 Flujo génico

El flujo génico entre pares de subpoblaciones fue bajo con un promedio global de migrantes por generación de 0.932 (d.e = 0.68) y un rango de 0.134 a 2.24 migrantes por generación.

El flujo génico fue asimétrico en pares de subpoblaciones por lo que el número de emigrantes e inmigrantes que se mueven entre pares de subpoblaciones es desigual (Cuadro 8). Atlangatepec y Bajío fueron las subpoblaciones con el mayor flujo génico hacia el resto de las poblaciones (5.082 y 4.657 individuos/generación, respectivamente), mientras que las subpoblaciones Altiplano Norte y Ciénegas del Lerma registran el menor flujo génico para el resto de las subpoblaciones (0.674 y 3.929 individuos/generación, respectivamente).

El mayor flujo génico ocurrió hacia las subpoblaciones de Atlangatepec (5.413 individuos/generación) y Tecocomulco (4.32 individuos/generación). La subpoblación Altiplano Norte manifiesta el menor flujo génico hacia el resto de las subpoblaciones ($X = 0.17$ o un migrante cada 5.8 generaciones) así como también, es la que recibe el menor flujo génico de parte de las otras subpoblaciones con un promedio de 0.28 migrantes por generación o un migrante por cada 3.6 generaciones (Cuadro 9).

Cuadro 9. Mediana ($M = m/\mu$) de la tasa de migración de individuos por generación entre pares de subpoblaciones. Los valores en la diagonal corresponden a Θ ($N_e = 4Nm$). Subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

	Subpoblación fuente					
	Tecocomulco	Atlangatepec	Ciénegas del Lerma	Bajío	Alt. Norte	
Subpoblación destino	Tecocomulco	2,3112	1,759	0,958	1,434	0,17
	Atlangatepec	2,245	1,1224	1,763	1,271	0,134
	Ciénegas del Lerma	1,093	1,238	4,0517	1,754	0,174
	Bajío	0,778	1,572	0,996	5,3655	0,196
	Alt. Norte	0,201	0,513	0,212	0,198	3,7588

6.2.6 Cuellos de botella

En términos generales, no se encontraron cuellos de botella genéticos en ninguna de las subpoblaciones muestreadas, ni en ninguno de los dos grupos genéticos. En ambos análisis, el modelo de mutación SMM fue el único que arrojó valores significativos, indicando que los locus no se ajustan a los otros modelos de mutación. Los resultados del análisis por subpoblación, indicaron que cada subpoblación se encuentra en equilibrio deriva-mutación, con excepción de las subpoblaciones Atlangatepec y Ciénegas del Lerma para las cuales se detectó crecimiento poblacional, P (heterocigosis deficiente) < 0.05 (Cuadro 10).

De igual manera, el análisis por grupos genéticos no determinó cuellos poblacionales recientes pero mostró que ambos grupos están en crecimiento poblacional P (heterocigosis deficiente) < 0.05 (Cuadro 11).

Cuadro 10. Resultados de la prueba de Wilcoxon del análisis de cuello de botella por subpoblación. IAM: Modelo de mutación de alelos infinito; TPM: Modelo de mutación de dos fases; SMM: Modelo de Mutación de paso a paso. Subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

	Modelo de Mutación					
	IAM		TPM		SMM	
	p (H def.)	p (H exc.)	p (H def.)	p (H exc.)	p (H def.)	p (H exc.)
Tecocomulco	0,5	0,593	0,5	0,593	0,078	0,953
Atlangatepec	3,43	0,718	0,078	0,945	0,039**	0,976
Ciénegas del Lerma	0,218	0,921	0,218	0,921	0,015**	0,992
Bajío	0,312	0,89	0,109	0,921	0,078	0,953
Altiplano Norte	0,656	0,421	0,281	0,781	0,078	0,945

p (H def.) = probabilidad de heterocigosis deficiente

p (H exc.) = probabilidad de heterocigosis excesiva

** = significancia estadística $< 0,05$

Cuadro 11. Resultados de la prueba de Wilcoxon del análisis de cuello de botella por grupo genético. IAM: Modelo de mutación de alelos infinito; TPM: Modelo de mutación de dos fases; SMM: Modelo de Mutación de paso a paso. Subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

	Modelo de Mutación					
	IAM		TPM		SMM	
	p (H def.)	p (H exc.)	p (H def.)	p (H exc.)	p (H def.)	p (H exc.)
Grupo genético 1	0,5	0,578	0,218	0,921	0,007**	1
Grupo genético 2	0,578	0,5	0,5	0,578	0,023**	0,984

p (H def.) = probabilidad de heterocigosis deficiente

p (H exc.) = probabilidad de heterocigosis excesiva

** = significancia estadística < 0,05

6.3 Análisis morfométricos

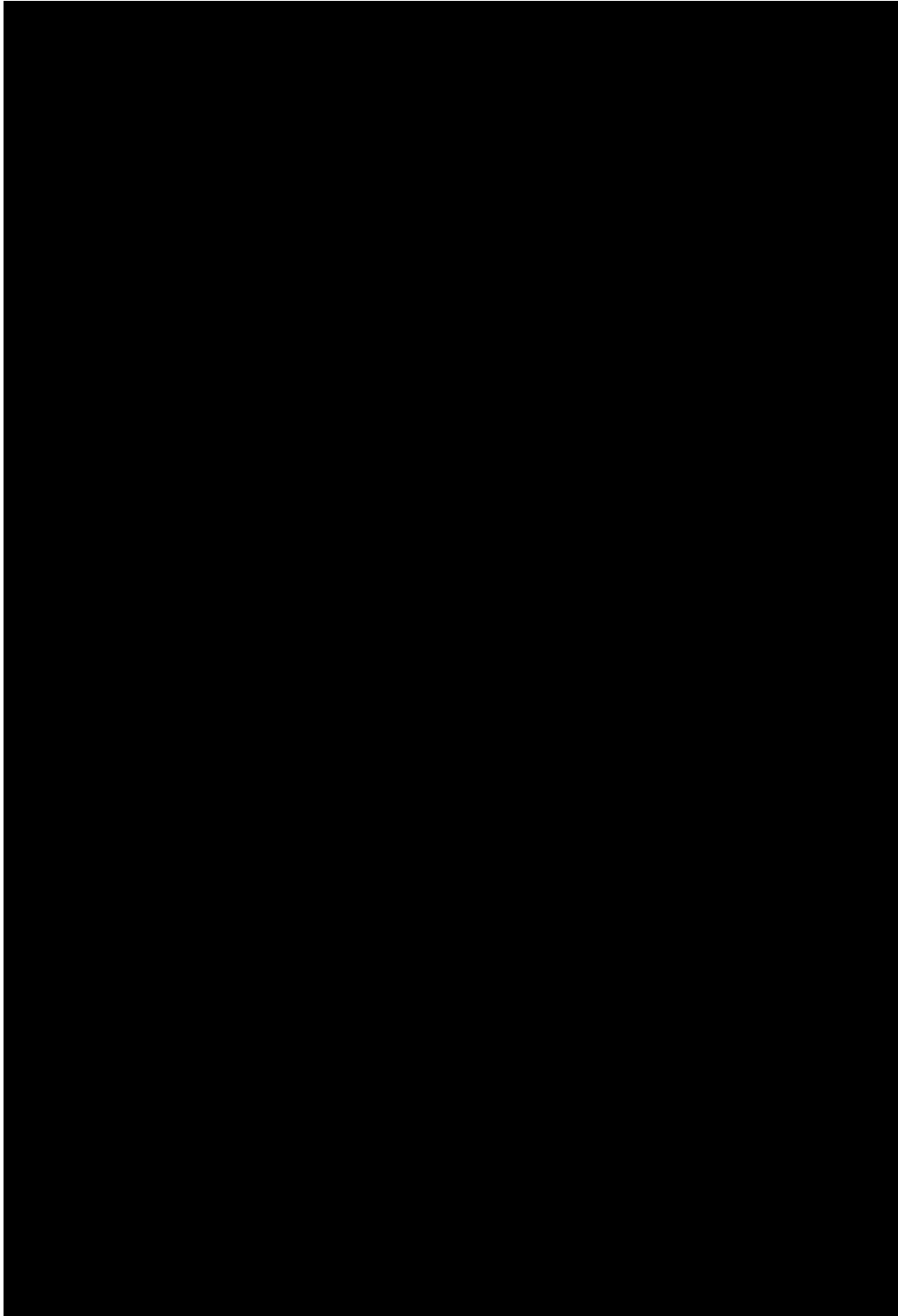
Todos los análisis estadísticos fueron realizados únicamente con individuos adultos dado que en las otras dos clases de edad los tamaños de muestra fueron muy pequeños.

6.3.1 Comparaciones entre sexos por subpoblación

Los análisis comparativos entre sexos por subpoblación fueron realizados únicamente para las subpoblaciones de Ciénegas del Lerma, Tecocomulco, Atlangatepec y Altiplano Norte. No se realizó el análisis para la subpoblación Bajío debido a que el número de datos de hembras (n=1) fue insuficiente.

Para las subpoblaciones analizadas, se encontró que el tamaño del cuerpo y el ancho del culmen de los machos son significativamente más grandes que en las hembras (Cuadro 12). En el caso de la longitud del tarso, longitud del ala, longitud de la cabeza y la longitud del culmen se encontraron diferencias significativas entre sexos para algunas subpoblaciones sin embargo esta condición no fue consistente para todas las subpoblaciones (Cuadro 12).

Cuadro 12. Medias, desviación estandar, rangos de las variables morfológicas para cada sexo en cada subpoblación y resultados de la comparación estadística de "U" de Mann-Whitney entre sexos de cada variable morfológica en cada subpoblación de pato mexicano *Anas diazi*. Ins datos insuficientes; S/D sin datos para el sexo. * $P < 0.05$



6.3.2. Comparación entre subpoblaciones

Se encontraron diferencias morfológicas interpoblacionales en ambos sexos únicamente para la longitud del culmen. Asimismo, se encontraron diferencias significativas en la longitud del ala entre los machos y en la longitud de la cabeza entre las hembras, en tanto que el resto de las variables morfológicas son iguales entre subpoblaciones en ambos sexos (Cuadro 13).

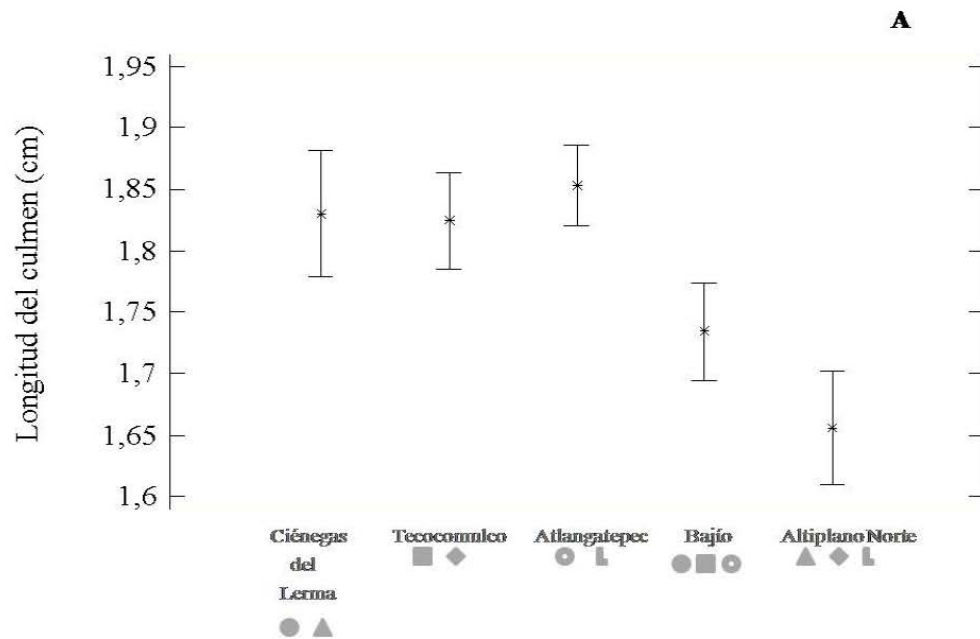
Cuadro 13. Resultados estadísticos de la prueba de Kruskal-Wallis entre subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

Variable morfológica	H	DF	P	Variable morfológica	H	DF	P
Longitud del tarso				Ancho del Culmen			
Machos	6.25	4	0.182	Machos	8.75	4	0.068
Hembras	8.06	4	0.090	Hembras	8.73	4	0.068
Longitud del ala				Longitud de la Cabeza			
Machos	17.33	4	0.002*	Machos	8.75	4	0.068
Hembras	0.92	4	0.922	Hembras	14.83	4	0.005*
Tamaño				Ancho de la cabeza			
Machos	6.92	4	0.140	Machos	2.22	4	0.696
Hembras	3.58	4	0.466	Hembras	7.50	4	0.112
Longitud del Culmen							
Machos	17.57	4	0.001*				
Hembras	9.61	4	0.048*				

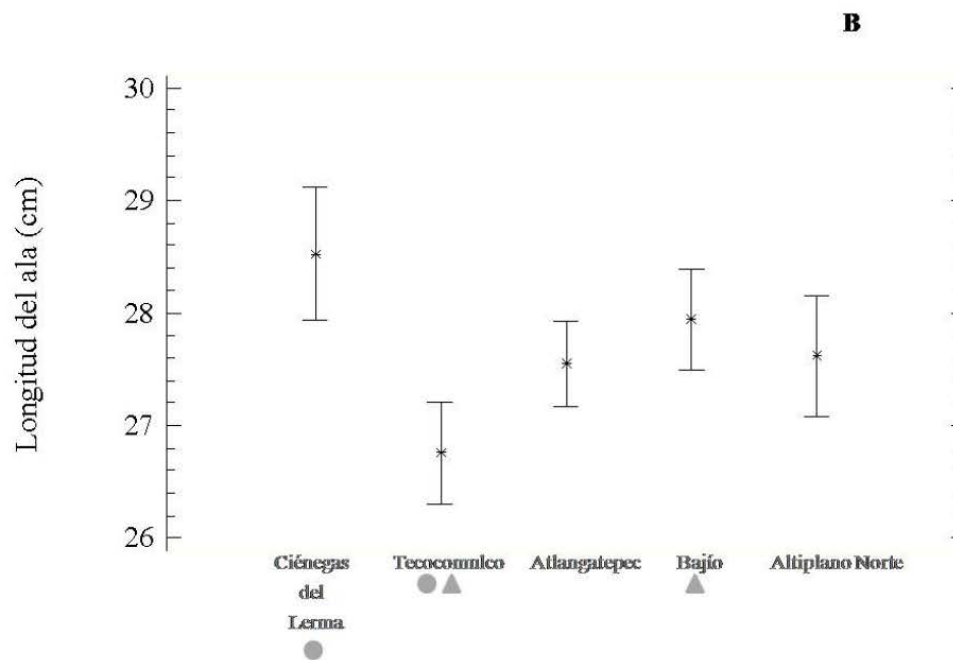
En el caso de los machos, las subpoblaciones que fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) para la longitud del culmen fueron Ciénegas del Lerma-Bajío, Ciénegas del Lerma-Altiplano Norte, Tecocomulco-Bajío, Tecocomulco-Altiplano Norte, Atlangatepec-Bajío y Atlangatepec-Altiplano Norte (Figura 7A), siendo más pequeño en las subpoblaciones Bajío y Altiplano Norte. La longitud del ala difirió significativamente ($p < 0.05$) entre las subpoblaciones de Ciénegas del Lerma-Tecocomulco y Tecocomulco-Bajío (Figura 7B).

En el caso de las hembras, la longitud del culmen difirió significativamente ($p < 0.05$) entre Altiplano Norte y las subpoblaciones de Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma para las que la longitud del culmen fue más grande (Figura 8A). La longitud de la cabeza fue significativamente diferente ($p < 0.05$) solamente entre Ciénegas del Lerma y Tecocomulco (Figura 8B).

Figura 7. Prueba de comparación múltiple de Tukey (HSD). Medias e intervalos de confianza al 95% de la longitud del culmen (A) y longitud del ala (B) en los machos entre subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.

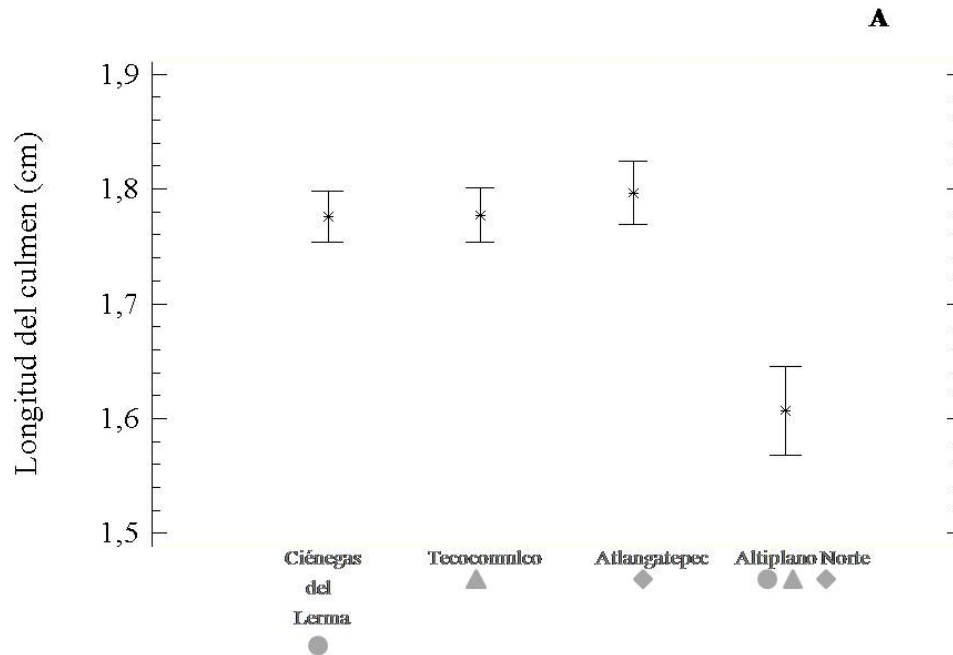


Dos subpoblaciones que comparten una figura geométrica son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

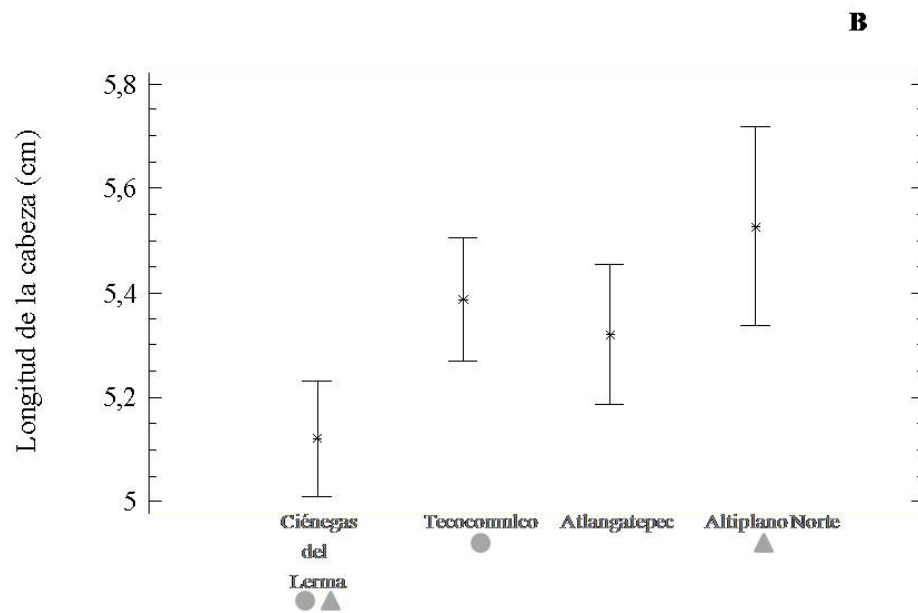


Dos subpoblaciones que comparten una figura geométrica son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Figura 8. Prueba de comparación múltiple de Tukey (HSD). Medias e intervalos de confianza al 95% de la longitud del culmen (A) y la longitud de la cabeza (B) en las hembras entre subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.



Dos subpoblaciones que comparten una figura geométrica son significativamente diferentes ($p < 0.05$)



Dos subpoblaciones que comparten una figura geométrica son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

6.3.3. Análisis de Componentes Principales

Debido a que hubo diferencias significativas entre sexos para la mayoría de las variables morfológicas evaluadas, se realizaron dos análisis de componentes principales (PCA), uno para machos y otro para hembras de manera separada.

Los resultados del PCA para machos indicaron que el 78.0% de la variación entre individuos de las poblaciones es explicada por tres componentes principales (PCA 1, PCA 2, PCA 3; Cuadro 14). La mayor variación fue representada por el PCA 1 (43.2%) asociado fundamentalmente a la longitud de la cabeza; el PCA 2 representó el 22.1% de la variación asociado a la longitud del culmen de los individuos, en tanto que el PCA 3 representó el 12.7% de la variación asociado al ancho del culmen, ancho de la cabeza y el tamaño de los individuos (Cuadro 15).

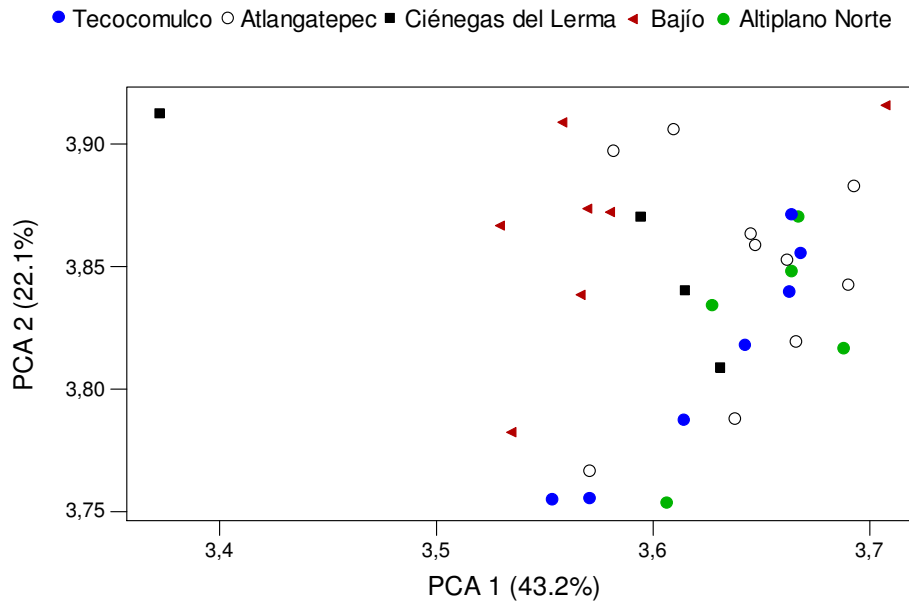
Cuadro 14. Análisis de componentes principales (PCA) de las variables morfológicas para los machos de las 5 subpoblaciones estudiadas de pato mexicano *Anas diazi*.

Componentes	Eigenvalor	Porcentaje de varianza	Porcentaje Acumulado
PCA 1	0,0043009	43.2	43.2
PCA 2	0,0022804	22.1	65.3
PCA 3	0,0012548	12.7	78.0

Cuadro 15. Peso de los componentes (PCA) de las variables morfológicas para los machos de las 5 subpoblaciones estudiadas de pato mexicano *Anas diazi*.

Variables Morfológicas	PCA 1	PCA 2	PCA 3
Tarso	0.163	0.242	0.150
Tamaño	0.402	0.275	-0.358
Ala	-0.079	0.375	-0.295
Longitud Culmen	0.191	0.655	0.229
Ancho Culmen	0.152	0.210	-0.625
Longitud Cabeza	0.862	-0.344	0.136
Ancho Cabeza	0.054	0.367	0.548

Figura 9. Análisis de componentes principales para las variables morfométricas de los machos de las 5 subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.



En cuanto a las hembras, el análisis de PCA indicó que el 70.1% de la variación entre individuos de las subpoblaciones es explicada por tres componentes principales (PCA 1, PCA 2, PCA 3; Cuadro 16). El PCA 1 tuvo la mayor variación con el 35.8% asociado fundamentalmente a la longitud del ala. El PCA 2 representó el 18.8% de la variación asociado a la longitud de la cabeza, ancho de la cabeza y longitud del tarso. El PCA 3 representó el 15.5% de la variación asociado a la longitud del culmen, longitud del tarso y ancho del culmen (Cuadro 17).

Cuadro 16. Análisis de componentes principales (PCA) de las variables morfológicas para las hembras de pato mexicano *Anas diazi*.

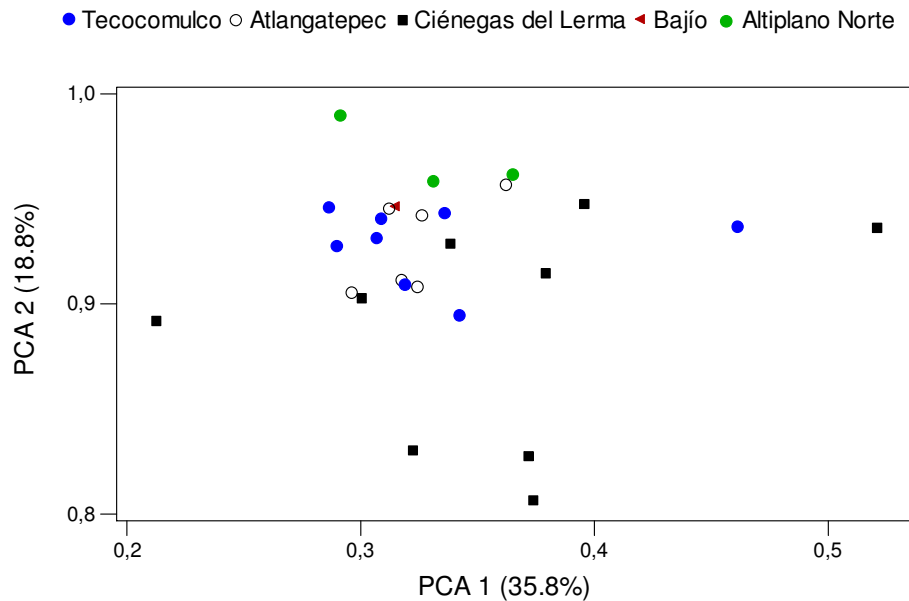
Componentes	Eigenvalor	Porcentaje de varianza	Porcentaje Acumulado
PCA 1	0,0033883	35.8	35.8
PCA 2	0,0017786	18.8	54.6
PCA 3	0,0014658	15.5	70.1

Cuadro 17. Peso de los componentes (PCA) de las variables morfológicas para las hembras de pato mexicano *Anas diazi*.

Variables Morfológicas	PCA 1	PCA 2	PCA 3
Tarso	-0.217	-0.183	0.410
Tamaño	-0.258	-0.078	-0.376
Ala	0.818	-0.046	0.278
Longitud Culmen	-0.391	0.165	0.636
Ancho Culmen	-0.075	0.073	0.405
Longitud Cabeza	0.002	0.943	-0.116
Ancho Cabeza	-0.245	-0.188	-0.178

Tanto para los machos como para las hembras, los resultados son consistentes con las pruebas de Kruskal-Wallis, ya que no muestran diferenciación evidente entre poblaciones o formación de grupos poblacionales (Figura 9 y figura 10).

Figura 10. Análisis de componentes principales para las variables morfométricas de las hembras de las 5 subpoblaciones de pato mexicano *Anas diazi*.



VII. Discusión

Los estudios de genética de poblaciones en anátidos aunque han sido numerosos, en su mayoría se han realizado en especies marinas de la tribu Mergini, siendo escasos los estudios de genética de poblaciones en especies de la tribu Anatini, limitándose a cuatro estudios en dos especies, el pato moteado (Williams *et al.* 2002, 2005) y el pato golondrino (*Anas acuta*; Flint *et al.* 2009, Fleskes *et al.* 2010).

Desafortunadamente a la fecha no se han realizado estudios de genética poblacional del pato mexicano en México con los cuales comparar los resultados del presente estudio, por lo que para efectos de esta discusión haré mayor alusión a los estudios realizados en el pato moteado pues es la comparación más apropiada tomando en cuenta que ambas especies son no migratorias y monomórficas (Bellrose 1980), y que además tienen una estrecha relación filogenética, ubicándose en el clado del pato de collar de América del Norte (North American Mallard; Johnson y Sorenson 1999, McCracken *et al.* 2001).

Amplificación de los microsatélites y análisis diagnóstico

El número de alelos por locus varió de 3 a 15, siendo en general más alto respecto al número de alelos reportados cuando fueron diseñados. Buchholz *et al.* (1998) reportaron tres alelos para el locus Bca μ 6 y cuatro alelos para el locus Bca μ 11; Fields y Scribner (1997) reportaron dos alelos para el locus Sfi μ 2 y 10 alelos para el Sfi μ 4; Denk *et al.* (2004) reportaron 13 alelos para el locus ApL11 y Mank *et al.* (2003) reportaron seis alelos para el locus Aph21. Sólo en el caso del locus ApL11 los resultados fueron consistentes con lo reportado; se determinó un mayor número de alelos para los locus Bca μ 6 (+1), Sfi μ 2 (+5) y Aph21 (+9). Se determinó un alelo menos para los locus Sfi μ 4 y Bca μ 11. Aunque ninguno de los microsatélites se diseñó para el pato mexicano, su amplificación sugiere que tanto las secuencias simples repetidas de bases como sus regiones flanqueantes también ocurren en el genoma del pato mexicano, situación que hace factible que otros microsatélites de anátidos amplifiquen en el ADN del pato mexicano.

Se ha planteado que una de las limitaciones del uso de microsatélites en diferentes taxa es que son especie-específicos (Selkoe y Toonen 2006). Normalmente, el uso de microsatélites desarrollados en otras especies puede llevar a bajos niveles de

polimorfismo relacionado con diferencias en la tasa de mutación entre especies y en diferencias en la longitud del microsatélite (Primmer *et al.* 1996). No obstante, en especies filogenéticamente relacionadas, la amplificación de microsatélites es más probable de ocurrir manteniendo un alto polimorfismo (Bellrose 1980, Bruford *et al.* 1996, Selkoe y Toonen 2006), situación que se ve reflejada en la amplificación de los 6 locus utilizados y que podría ser más tangible en la mayor riqueza alélica encontrada en los locus ApL11 y Aph21, que son microsatélites diseñados para el pato de collar, que es su especie hermana y con la que consecuentemente tiene una estrecha relación filogenética (MacCracken *et al.* 2001). Esto conlleva a intuir que otros microsatélites diseñados para el pato de collar podrían tener mayor éxito de amplificación y alto polimorfismo en el ADN del pato mexicano que microsatélites diseñados para otros anátidos. En particular, se propone probar la amplificación de microsatélites diseñados para el pato de collar para estudios de paternidad como los diseñados por Denk *et al.* (2004) y Maak *et al.* (2003), ya que su alto polimorfismo es un atributo excepcional para emplearse en estudios de genética poblacional.

La ausencia de alelos intermedios ocurrió en 4 de los 6 locus (Sfi μ 2, Sfi μ 4, ApL11 y Aph21) con un rango de alelos faltantes de 1 a 3. Los resultados de la diagnosis de los datos moleculares sugieren que la falta de alelos intermedios pudiera estar determinada por la presencia de alelos nulos o a una baja frecuencia alélica. La primera opción podría aplicarse únicamente al locus Sfi μ 2, ya que el análisis con MicroChecker indicó la presencia de alelos nulos en este locus y no en los otros tres. Por lo tanto, la falta de los alelos intermedios en los cuatro locus podría estar mayormente asociada a que tengan una baja frecuencia alélica en la población total maximizada por el efecto del muestreo, es decir, que los alelos faltantes ocurran sólo en algunos individuos en la población total y que ninguno de ellos haya sido colectado. Esto es admisible si se tiene en cuenta que el tamaño de muestra para algunas subpoblaciones fue pequeño, lo que por ende reduciría la probabilidad de que los alelos de baja frecuencia figuraran entre las muestras colectadas.

Se determinó desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg en las subpoblaciones de Tecocomulco, Ciénegas del Lerma y Altiplano Norte, con valores de F_{IS} mayores a 0.20. Tales valores de F_{IS} son relativamente altos comparados con los reportados por Williams *et al.* (2002) para subpoblaciones del pato moteado ($F_{IS} = 0.031$). El valor significativamente más alto de F_{IS} reportado en patos es de 0.15 para la población reproductiva del pato de Steller (*Polysticta stelleri*) del Río Indigirka, Alaska

(Pearce *et al.* 2005). No obstante, valores similares y más altos de endogamia han sido reportados para algunas poblaciones de los patos marinos *Somateria fischeri* y *S. mollissima v. nigrum* (Tribu Mergini) en Alaska y Rusia, con rangos que van desde 0.117 a 0.258 y -0.328 a 0.662, respectivamente (Scribner *et al.* 2001, Sonsthagen *et al.* 2007), aunque en ninguno de los dos estudios los valores fueron significativos ($p > 0.05$).

El déficit de heterócigos sugiere la presencia de endogamia en todas las subpoblaciones. Debido a que la endogamia afecta las frecuencias genotípicas en todos los loci de una población, su presencia se corrobora cuando en todos los loci analizados la frecuencia de genotipos heterócigos es menor que la frecuencia de los genotipos homócigos, pero si la frecuencia de heterócigos es baja solo en algunos loci y en otros no, se concluye la presencia de efecto Wahlund (Hedrick 2005). De acuerdo con lo anterior, se descarta la presencia de endogamia en todas las subpoblaciones ya que la frecuencia de genotipos homócigos fue mayor que los genotipos heterócigos en 3 de los 6 locus en promedio para cada subpoblación, indicando que los valores de F_{IS} son producto de efecto Wahlund, aún cuando éste no fue detectado por el programa Microchecker en el análisis diagnóstico de los datos. En el caso de la subpoblación Altiplano Norte, la presencia de efecto Wahlund es altamente probable por efecto de la agrupación que se hizo de las subpoblaciones de Zacatecas y Chihuahua, ya que al ser geográficamente distantes –aproximadamente 836 km de distancia- es posible que tengan nula o escasa interconexión génica.

En el caso de las subpoblaciones de Tecocomulco y Ciénegas del Lerma, el efecto Wahlund podría tener origen temporal relacionado con el periodo de colecta, más que un efecto espacial. Es conocido que a medida que avanza la temporada de estiaje la disponibilidad de hábitat se va reduciendo, ocasionando que los patos mexicanos se congreguen en los humedales remanentes. De febrero a abril, cuando el estiaje es más severo, los patos mexicanos pueden congregarse en grupos de cientos de individuos hasta el inicio de la temporada de lluvias, cuando se vuelven a dispersar para su reproducción (Williams 1980). Ya que para las subpoblaciones Tecocomulco y Ciénegas del Lerma la colecta se efectuó principalmente en marzo-abril, la alta concentración de individuos en esta época pudo aumentar la probabilidad de coleccionar individuos genéticamente emparentados, ocasionando una sub-estructuración genética que de lugar al efecto Wahlund.

Estructura genética poblacional

Los resultados mostraron la existencia de una estructura genética poblacional compuesta de 2 grupos o poblaciones genéticas con las subpoblaciones Tecocomulco, Atlangatepec, Ciénegas del Lerma y Bajío conformando el grupo 1, y la subpoblación Altiplano Norte constituyendo el grupo 2.

La estructura genética poblacional es apoyada por la variación en la distribución de la frecuencia alélica de los loci entre subpoblaciones y por los valores de diferenciación genética de F_{ST} que fueron significativos entre la subpoblación del Altiplano Norte y el resto de las subpoblaciones con excepción de la subpoblación Bajío. Los análisis de las frecuencias alélicas evidenciaron claramente que en la mayoría de los locus amplificados los alelos predominantes en la subpoblación Altiplano Norte no lo son para el resto de las subpoblaciones y viceversa. Por otro lado, de acuerdo con Hartl y Clark (1997), los valores de F_{ST} entre la subpoblación Altiplano Norte y el resto de las subpoblaciones de pato mexicano, son moderados (0.1192 a 0.1289) y relativamente más altos que los valores determinados para otros patos. Evaluaciones de la estructura genética poblacional en el pato moteado a escala geográfica local (Florida) y regional (Florida y Texas), usando microsatélites, reportaron bajos valores de diferenciación poblacional F_{ST} de 0.014 y 0.05, atribuidos, en ambos casos, a la naturaleza sedentaria no migratoria de la especie así como a la estrecha distancia geográfica entre subpoblaciones (Williams *et al.* 2002, 2005). Baja diferenciación genética interpoblacional también se ha registrado en patos con dispersión limitada y poblaciones aisladas como el caso del pato *Bizura lobata* de Australia, para el cual se determinó una diferenciación genética F_{ST} de 0.035 entre la subpoblación del Este y la subpoblación del Oeste, y valores de diferenciación significativos de 0.018 a 0.050 entre algunas subpoblaciones dentro de las regiones determinados mediante el uso de microsatélites (Guay *et al.* 2010). En este contexto, también se ha detectado diferenciación interpoblacional significativa entre subpoblaciones de pato azul de Nueva Zelanda (*Hymenolaimus malacorhynchos*) con el uso de AFLP's (Triggs *et al.* 1992) y entre subpoblaciones del pato *Tachyeres patachonicus* en Sudamérica mediante análisis de variación de aloenzimas (Corbin *et al.* 1988), sin embargo, su comparación con los resultados del pato mexicano es inapropiado debido a la diferencia en la expresión del polimorfismo de los marcadores (Frankham *et al.* 2002).

La presencia de alelos privados y los valores de F_{ST} indican que la estructura y diferenciación genética poblacional del pato mexicano ha sido determinada por eventos de deriva génica, específicamente en la subpoblación Altiplano Norte, asociados a su pequeño tamaño poblacional histórico y el escaso flujo génico entre esta región geográfica y el resto de las subpoblaciones. En poblaciones pequeñas la deriva génica puede ocasionar cambios en las frecuencias alélicas ya sea por la pérdida azarosa de alelos o por la fijación de alelos ocasionando la divergencia genética entre subpoblaciones (Hedrick 2005, Allendorf y Luikart 2007). Los efectos génicos producidos por la deriva génica se acentúan mayormente en subpoblaciones pequeñas que manifiestan aislamiento debido a la falta de flujo génico con otras subpoblaciones, situación que propicia la aparición de alelos privados en la subpoblación aislada (Frankham *et al.* 2002, Allendorf y Luikart 2007). Evaluaciones de la tendencia poblacional histórica del pato mexicano en México revelan que previo a 1980, en el Altiplano Norte la población de patos mexicanos era pequeña, conformando menos del 10% de la población total del país; los datos más antiguos revelan que en 1960 la población de patos mexicanos del norte de México conformaba apenas el 8% del total de la población nacional (Pérez-Arteaga *et al.* 2002). Ya que las estimaciones de flujo génico reflejan patrones históricos, el bajo flujo génico entre la subpoblación Altiplano Norte y el resto de las subpoblaciones muestreadas en este estudio (N_m promedio= 0.17 migrantes por generación) indica la existencia de un cierto grado de aislamiento génico histórico de la subpoblación Altiplano Norte que, aunado a su pequeño tamaño poblacional histórico, hacen factible que la deriva génica sea la fuerza evolutiva responsable de la diferenciación genética de dicha subpoblación. Esto está apoyado por los valores de F_{ST} , recordando que este estimador es un indicador del nivel de divergencia o diferenciación genética entre subpoblaciones asociado a la deriva y el flujo génico, cuyos supuestos establecen que valores cercanos a “cero” indican alta similitud génica entre subpoblaciones por efecto de alto flujo génico entre ellas, y valores cercanos a “1” indican escaso flujo génico y divergencia génica entre subpoblaciones por efecto de la deriva génica (Hedrick 2005).

También existe la posibilidad de que la diferenciación genética esté supeditada a cierto grado de introgresión génica del pato de collar en las subpoblaciones de pato mexicano de la región Altiplano Norte por efectos de hibridación. En México, el pato de collar es una especie migratoria de invierno con distribución acotada a algunas zonas en el norte del país y con bajos números poblacionales (Bellrose 1980, Saunders y

Saunders 1981, Pérez-Arteaga y Gaston 2004). Aunque no existen poblaciones reproductivas de pato de collar en México que pudieran entrar en contacto con alguna subpoblación de pato mexicano, ambas especies son simpátricas en los estados de Texas y Nuevo Mexico, en el sur de Estados Unidos, en donde se ha documentado hibridación entre ambas especies y cuya progenie es fértil (Hubbard 1977, Brodsky y Weatherhead 1984, Mazourek y Gray 1994, Young 2005). Scott y Reynolds (1984) suponen que la influencia del pato de collar en la coloración del plumaje de los patos mexicanos del norte de México pudiera estar asociada con la presencia de los híbridos en México. La introgresión génica del pato de collar es patente en el parecido fenotípico en el color del plumaje de los patos mexicanos de la región norte de México, siendo más conspicua y fácilmente distinguible en los machos por la coloración parcialmente verde de la cabeza, la presencia de plumas blancas en la cola (Williams 1980, Scott y Reynolds 1984) y la coloración rojiza de las plumas del pecho que es evidente en patos en vuelo (Obs. personal). Aunque en el presente estudio no se identificaron individuos híbridos en la muestra total de patos colectados, la dificultad de identificar híbridos particularmente entre hembras por su gran parecido fenotípico (Williams 1980), no se descarta la posibilidad de que en la muestra total colectada de la subpoblación Altiplano Norte existan individuos híbridos. Sin embargo, también es posible que esté asociado a una gradación geográfica primaria entre las subpoblaciones.

Ante las evidencias de hibridación del pato mexicano en el norte de México, Williams (1980) y Pérez-Arteaga *et al.* (2002) han señalado que la hibridación puede representar una amenaza potencial para el pato mexicano como especie en el norte de México. La hibridación puede llevar a la declinación de las especies ya sea a través de depresión por exogamia o mezcla genética, generando dilución génica (Rhymer 2006). Pérez-Arteaga *et al.* (2002) proponen que es imprescindible identificar poblaciones híbridadas y, si las poblaciones del altiplano centro tienen algún grado de contaminación génica del pato de collar, esto sería clave para integrarse como criterio para la selección de sitios prioritarios para la conservación de la especie.

Para conocer el grado de introgresión génica del pato de collar, una propuesta viable sería hacer estudios de hibridación con el uso de los mismos microsatélites que se usaron en el presente estudio. El estudio implicaría obtener muestras de pato de collar y de patos híbridos, hacer su caracterización genética y comparar los genotipos del pato mexicano, pato de collar y de los híbridos para identificar si los alelos únicos

determinados en este estudio provienen del pato de collar y determinar el grado de introgresión génica total.

Scott y Reynolds (1984) en sus análisis de variación fenotípica del pato mexicano, encontraron que el índice de plumaje fue más variable en las poblaciones del norte de México, donde la hibridación con el pato de collar es activa, mientras que el índice fue menos variable en las poblaciones del centro de México. Un patrón similar se detectó en la composición genética de cada subpoblación mediante los resultados de probabilidad de asignación arrojados por STRUCTURE. De las subpoblaciones asignadas al grupo génico 1, Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma tuvieron una probabilidad de asignación mayor al 95%, en tanto que la subpoblación Bajío tuvo una probabilidad de asignación del 88%, lo que sugiere que es una subpoblación genéticamente entremezclada, es decir, presenta alelos de ambos grupos genéticos y no representa un linaje único. Una situación similar sucede con la subpoblación Altiplano Norte, que es asignada al grupo genético 2 con una probabilidad del 81%. Lo anterior es evidente en el esquema gráfico de la figura 4 en las columnas correspondientes a cada subpoblación, donde cada barra es igual a un individuo y la presencia de dos colores en una misma barra denota a un individuo con características entremezcladas. El hecho de que las subpoblaciones Bajío y Altiplano Norte sean genéticamente entremezcladas explica por qué el valor de diferenciación poblacional F_{ST} (0.1024) entre ambas subpoblaciones no es significativo.

Si bien la asignación genética de la subpoblación Bajío está mayormente vinculada al grupo genético 1, la presencia de individuos entremezclados y su posición intermedia entre las subpoblaciones asignadas al grupo genético 1 (Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma) y la subpoblación Altiplano Norte asignada al grupo genético 2, sugieren que esta subpoblación representa el sitio de mezcla entre ambos grupos genéticos. Esto coincide en cierta manera con los resultados de Scott y Reynolds (1984) sobre la variación fenotípica en el color del plumaje del pato mexicano que indican que el lago de Chapala representa el límite sur de la influencia del fenotipo del pato de collar.

Asimismo, la estructura genética poblacional determinada en este estudio coincide con la estructuración poblacional fenotípica en coloración del plumaje encontrada por Hubbard (1977) y Scott y Reynolds (1984). Con base en la evaluación de la variación en la coloración del plumaje del pato mexicano, dichos autores detectaron que los patos mexicanos del Altiplano Norte desde Durango a Chihuahua

tienen una coloración más clara explicada por la influencia del pato de collar vía hibridación con el pato mexicano en dicha región geográfica. Una coloración significativamente más clara ocurre en los patos mexicanos del Centro de México a partir de Zacatecas y Chapala hacia el sur, los cuales aparentemente no tienen influencia del pato de collar, considerándose poblaciones puras de pato mexicano. Ya que los resultados genéticos apoyan dicha estructura poblacional, las características fenotípicas del color del plumaje podrían ser un indicador confiable para determinar el origen genético de los individuos.

La matriz de distancias genéticas de Nei *et al.* (1983) y el árbol del vecino más cercano (neiborg-Joining), reflejaron diferencias en la relación genética entre las subpoblaciones de ambos grupos genéticos. Por un lado, la subpoblación Altiplano Norte manifestó una menor relación genética con el resto de las subpoblaciones con distancias genéticas mayores al 30%. La más alta relación genética ocurre entre las subpoblaciones de Tecocomulco-Atlangatepec y Ciénegas del Lerma con distancias genéticas de 5% a 7%. Estos resultados indican que la translocación de individuos del Altiplano Norte a cualquiera de las otras subpoblaciones sería inapropiada, mientras que la translocación de individuos entre subpoblaciones del altiplano centro es más factible con excepción de la subpoblación Bajío ya que tiene distancias genéticas entre el 15% a 22%.

Diversidad genética

La diversidad genética (H_E) total fue de 0.579 y para cada subpoblación osciló entre 0.487 a 0.652. Estos resultados son similares a y caen dentro de los rangos de diversidad genética de otros patos de la tribu Anatini (Cuadro 18), especialmente de las especies del grupo taxonómico del pato de collar de América del Norte como el pato moteado, el pato negro (*Anas rubripes*) y el pato Hawaiano (*A. wyvilliana*), que son especies monomórficas con distribución limitada (Bellrose 1980). Sin embargo, la diversidad genética del pato mexicano es baja en relación con la de otros patos de la tribu Anatini como el pato de collar y el pato golondrino (*Anas acuta*) que tienen una amplia distribución neártica y paleártica, grandes tamaños poblacionales y una amplia capacidad de dispersión (Bellrose 1980), para los cuales se han reportado valores de diversidad genética de 0.5-0.69 y 0.69-0.72, respectivamente (Mank *et al.* 2004, Fowler *et al.* 2009, Fleskes *et al.* 2010). Por otra parte, la diversidad genética del pato mexicano es

mayor a la reportada para especies que han acusado drástica declinación poblacional con poblaciones aisladas producto de la fragmentación del hábitat como es el caso del pato cabeza blanca (*Oxyura leucocephala*) y el cisne trompetero (*Cygnus buccinator*), cuya diversidad genética es de 0.183 y 0.199, y de 0.387 a 0.498, respectivamente (Oyler-McCance *et al.* 2007, Muñoz-Fuentes 2008). Estos datos sugieren que la diversidad genética del pato mexicano en términos generales es intermedia respecto a los anátidos migratorios pero alta y similar a la de otros anátidos no migratorios.

La menor diversidad genética ocurrió en la subpoblación de Atlangatepec ($H_e = 0.487$), siendo en promedio 0.07 veces más baja que en las otras subpoblaciones estudiadas. Esta menor diversidad genética podría estar explicada por el origen relativamente reciente de la subpoblación, pues este humedal artificial fue creado en 1961 (Llerena *et al.* 2004) y la colonización por parte del pato mexicano podría haber ocurrido en años posteriores, de modo que es posible que no haya transcurrido el tiempo suficiente para que se fijen nuevos alelos o para que nuevos alelos lleguen por medio de migrantes de otras subpoblaciones. Ya que según los resultados arrojados por Migrate esta subpoblación recibe inmigrantes de otras subpoblaciones, se esperaría que su diversidad genética incrementara con el tiempo, siempre y cuando no pasara por algún evento estocástico climático, demográfico o antrópico directo o indirecto que disminuyera significativamente su tamaño poblacional conduciendo a la pérdida azarosa de alelos. La diversidad genética de esta subpoblación no es tan baja como la reportada para especies de aves con poblaciones fragmentadas, en peligro de extinción y con pequeños tamaños poblacionales como el pato cabeza blanca ($H_e = 0.183$ y 0.199 , Muñoz-Fuentes 2008), el cuervo de Mariana (*Corvus kubaryi*; $H_e = 0.16$), el kestrel de Mauricio (*Falco punctatus*; $H_e = 0.10$), el kestrel de Seychelles (*Falco araea*; $H_e = 0.0.12$) y el aucaldón de la Isla de San Clemente (*Lanius ludovicianus mearnsi*; $H_e = 0.34$) (Frankham *et al.* 2002).

Debido a la falta de estudios genéticos previos del pato mexicano es imposible afirmar que los valores de diversidad genética obtenidos reflejen una disminución o aumento en cada subpoblación. Es importante considerar que los valores de diversidad genética en general fueron altos aún cuando se utilizaron solo 6 loci, cuando en la mayoría de los estudios se utilizan como mínimo 10 loci, deduciendo que el polimorfismo de los loci fue alto.

Cuadro 18. Diversidad genética en diversas especies de anátidos.

Especie	Tribu	H _E	Referencia
Pato mexicano (<i>Anas diazi</i>)	Anatini	0.487-0.652	Colón (2010) Presente estudio
Pato moteado (<i>Anas fulvigula</i>)	Anatini	0.56	Williams et al. (2005)
		0.41	Williams et al. (2005)
		0.49-0.55	Williams et al. (2002)
		0.52-0.54	Williams et al. (2005)
Pato de collar (<i>Anas platyrhynchos</i>)	Anatini	0.50-0.60	Williams et al. (2005)
		0.542-0.658	Mank et al. (2004)
		0.69	Fowler et al. (2009)
Pato negro (<i>Anas rubripes</i>)	Anatini	0.513-0.537	Mank et al. (2004)
Pato Hawaiano (<i>Anas wyvilliana</i>)	Anatini	0.52	Fowler et al. (2009)
Pato golondrino (<i>Anas acuta</i>)	Anatini	0.697	Fleskes et al. (2010)
		0.71-0.72	Flint et al. (2009)

Uno de los mayores intereses del presente proyecto era conocer el estado de salud genética de los patos mexicanos en el lago de Chapala y en las Ciénegas del Lerma, en virtud de la marcada declinación poblacional que han acusado por lo menos desde las últimas dos décadas del siglo XX (Pérez-Arteaga *et al.* 2002). Desafortunadamente la diagnosis genética de la subpoblación del lago de Chapala no pudo llevarse a cabo debido al limitado tamaño de muestra (n=5), sin embargo es menester continuar con el trabajo de campo para incrementar el tamaño de muestra, y así, generar la información que provea del conocimiento suficiente y confiable de los efectos de la declinación poblacional en la condición genética actual del pato mexicano en este humedal.

En el caso particular de las Ciénegas del Lerma, la no detección de cuellos de botella recientes y la similitud de su diversidad génica ($H_E = 0.539$) con la de las especies citadas en el cuadro 18, conlleva a suponer que a pesar de la declinación poblacional reportada por Pérez-Arteaga *et al.* (2002), la diversidad genética podría no haber sido disminuida considerablemente posiblemente porque no hubo una disminución drástica en el *tamaño efectivo poblacional* (N_e) o a que hubo una rápida recuperación poblacional que no dió lugar a la pérdida significativa de alelos por azar, ya que la disminución de la diversidad genética está sujeta al tamaño, duración y periodicidad del cuello de botella poblacional, por lo que si se presenta un pequeño cuello de botella y de corta duración, la pérdida de diversidad genética puede ser mínima, así como también, si la población objeto de estudio tiene una rápida tasa de crecimiento (Luikart *et al.* 1998).

Sin embargo, independientemente del efecto de la declinación poblacional en la diversidad genética en la subpoblación Ciénegas del Lerma, es posible que su estimación haya sido influida por la alta tasa de mutación de los microsatélites. Debido a la alta tasa de mutación que manifiestan los microsatélites, estos tienden a recuperar rápidamente su diversidad genética, con lo cual la huella molecular del cuello de botella no se mantiene por grandes periodos de duración (Avice 2004). La alta frecuencia de alelos raros encontrados en la subpoblación apoya esta idea, bajo el fundamento teórico de que tras un cuello de botella poblacional los alelos raros se pierden más rápidamente por deriva génica (Luikart *et al.* 1998). En este contexto, la alta frecuencia de alelos raros en cada subpoblación (Figura 2) da constancia de que la diversidad genética no ha disminuido como consecuencia de cuellos de botella poblacionales recientes.

Todos los estimadores de diversidad genética utilizados fueron consistentes en cada subpoblación y señalaron que la mayor diversidad genética se presenta en las subpoblaciones Altiplano Norte y Ciénegas del Lerma. En el caso de la subpoblación Altiplano Norte, los resultados tienen que tomarse con cautela dada la presencia del efecto Wahlund; sin embargo, es indispensable realizar un estudio genético detallado en esa región geográfica de México incluyendo al menos una subpoblación de los estados de San Luis Potosí, Durango y Coahuila y aumentar los tamaños de muestra de las subpoblaciones de Zacatecas y Laguna Mexicanos, de tal manera que se tenga información de toda la distribución Norte de México que permita contar con conocimiento detallado sobre la distribución de la diversidad genética, con la cual generar información concreta y puntual para designar sitios prioritarios para la conservación de la especie y conocer las interacciones genéticas entre ellas.

En lo que respecta a las Ciénegas del Lerma, su alta diversidad genética la convierte en una subpoblación prioritaria de conservación para el pato mexicano en la región centro de México, o bien, para el grupo genético poblacional 1, de acuerdo con los resultados de estructuración poblacional. Esta subpoblación podría fungir como sitio fuente para la translocación de individuos hacia las otras subpoblaciones inmersas en el grupo genético poblacional 1, toda vez que su situación poblacional mejore. Esta situación, aunada a las evidencias de declinación poblacional del pato mexicano en las Ciénegas del Lerma reportadas por Pérez-Arteaga *et al.* (2002), hacen imprescindible la protección especial de la especie en este sitio, misma que podría instituirse en el programa de conservación y manejo del APFF Ciénegas del Lerma –aún en desarrollo-

a través del cual se instrumenten acciones encaminadas a proteger e incrementar las áreas de anidación, efectuar actividades de educación ambiental entre ejidatarios y usufructuarios de los recursos lacustres a fin de disminuir el hurto de huevos y la captura de crías y erradicar la quema indiscriminada e incontrolada de tulares que destruyen el hábitat del pato mexicano y de otras especies de vertebrados e invertebrados, destruyen nidos (Figura 11) y eliminan el hábitat de anidación del pato mexicano y de otras especies; proponer y establecer áreas de agostadero para el pastoreo de ganado con objeto de reducir el impacto del pastoreo en la pérdida de cobertura vegetal para la anidación de la especie; implementar programas de control de perros domésticos (*Canis familiaris*) ferales por su impacto potencial como depredadores de nidos; promover la regularización sobre el aprovechamiento cinegético del pato mexicano en las Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMAs) y la implementación de un programa de evaluación de la cosecha para conocer el impacto de la cacería sobre la población local de pato mexicano, ya que actualmente no se cuenta con datos reales ni confiables sobre la cosecha anual dado que en ninguna de las UMA se lleva a cabo la cuantificación de las aves cosechadas en cada uno de los domingos de la temporada cinegética. Y reforzar lo anterior con un componente dirigido a desarrollar acciones de restauración, saneamiento, rehabilitación y remediación de hábitat y al mismo tiempo promover la investigación en torno a aspectos demográficos, ecología reproductiva e historia de vida para identificar aspectos clave que pudieran estar afectando al crecimiento de la población local del pato mexicano.

Figura 11. Nidos de pato mexicano destruidos por incendio de tular en la temporada reproductiva 2008 en la laguna de Chiconahuapan, San Mateo Texcalyacac, Estado de México, polígono I del APFF Ciénegas del Lerma.



El número total de alelos privados determinados en este estudio es similar a lo reportado por Williams (2002, 2005) para el pato moteado. A escala local, en un estudio realizado en Florida, Williams *et al.*, (2002), determinaron 6 alelos privados en 4 de 6 locus analizados con un promedio de 1 alelo privado por locus; mientras que a escala regional (Texas y Florida) el número total de alelos privados fue de 22, 12 para la población de Florida y 10 para la población de Texas, con un promedio de 2 alelos privados por locus (Williams *et al.* 2005).

La frecuencia alélica de los alelos privados de las subpoblaciones Atlangatepec, Tecocomulco y Ciénegas del Lerma fue baja (0.029, 0.033 y 0.026), en tanto que para la subpoblación Altiplano Norte fue alta para tres alelos (0.44, 0.167 y 0.269) y baja en dos (0.038 y 0.077). La baja frecuencia alélica de los alelos privados de las subpoblaciones Tecocomulco, Atlangatepec y Ciénegas del Lerma, alude a un posible origen reciente de tales alelos ocurriendo en un bajo número de individuos y que aún no han sido fijados en cada subpoblación, haciéndolos altamente susceptibles de desaparecer de los acervos genéticos por causa de alguna circunstancia o fenómeno estocástico que conlleve a la muerte de los individuos portadores. Por el contrario, en la subpoblación Altiplano Norte los tres alelos privados con la alta frecuencia alélica, indica que son componentes importantes del acervo genético de la población y por lo tanto pueden ser catalogados como marcadores moleculares confiables de la población.

Los resultados de los análisis de cuello de botella indicaron que cada grupo genético poblacional y cada subpoblación manifiestan crecimiento poblacional (P heterocigosis deficiente < 0.05).

Los resultados concuerdan con los análisis de tendencias poblacionales. Durante los últimos 40 años del siglo XX, la población total de patos mexicanos mantuvo un incremento significativo de 2.5% por año; la población del Norte de México tuvo un incremento anual de 7.7% y la población del Centro se mantuvo sin cambio sosteniéndose como el área que concentra la mayor proporción de la población total del pato mexicano (Pérez-Arteaga *et al.* 2002). Solamente en el caso de las Ciénegas del Lerma, los resultados genéticos de cuello de botella no coinciden con los datos de la tendencia poblacional que muestran una declinación promedio de 11.8% anual a partir de 1990 y hasta el año 2000 (Pérez-Arteaga *et al.* 2002). Esta diferencia podría explicarse por el hecho de que en especies cuyas poblaciones sufren una reducción de su tamaño poblacional censal pueden no experimentar una reducción significativa de su tamaño efectivo poblacional, particularmente si éste ha sido históricamente bajo debido a factores como fluctuaciones en su tamaño poblacional, la dinámica de sus sistemas de apareamiento o a comportamiento metapoblacional (Pimm *et al.* 1989).

Flujo génico

El flujo génico promedio fue de 0.932 individuos por generación, con un rango de 0.134 a 2.24 individuos/generación. Estimaciones similares a las de este estudio se han reportado para el pato moteado comparando subpoblaciones de Florida y Texas, obteniendo valores de 2.2 migrantes por generación (Williams *et al.* 2005), aunque tal estimación fue hecha con el método de alelos privados de Barton y Slatkin (1986) y por lo tanto la comparación con el presente estudio debe tomarse con cautela. En el pato golondrino (*Anas acuta*), una especie migratoria latitudinal (Bellrose 1980), Fleskes *et al.* (2010) estimaron un flujo génico de 6.2 a 10.3 migrantes por generación entre subpoblaciones del valle central de California, mientras que Flint *et al.* (2009) estimaron 244.8 migrantes por generación entre subpoblaciones de California y Japón. El alto flujo génico en el pato golondrino se ha atribuido a la alta capacidad de dispersión efectiva de los machos (movimiento de individuos hacia otras poblaciones donde se reproducen exitosamente, Greenwood y Harvey 1982), favorecido por su sistema de

apareamiento de monogamia anual caracterizado por la formación de parejas nuevas cada año y fuerte filopatría de las hembras al sitio de reproducción (Anderson *et al.* 1992, Oring y Sayler 1992). En este caso, hembras y machos de diferentes regiones geográficas convergen en sitios de invierno donde forman parejas al azar. Al final del invierno, cuando inicia la migración de primavera hacia las áreas de reproducción, los machos siguen a sus parejas a su sitio de reproducción del año anterior hasta la dilución de las parejas que ocurre con el inicio de la incubación por parte de las hembras. En el siguiente periodo invernal hembras y machos forman nuevas parejas con individuos de regiones geográficas distintas a las que pertenecían sus parejas anteriores, repitiendo el mismo ritual de migración (Anderson *et al.* 1992, Oring y Sayler 1992). A partir de lo anterior, se puede deducir que el flujo génico estimado para el pato mexicano es bajo con respecto a otros anátidos de amplia distribución continental y transcontinental pero semejante al de otros patos no migratorios.

Se determinó flujo génico diferencial caracterizado por un bajo flujo génico entre la subpoblación Altiplano Norte y el resto de las subpoblaciones muestreadas así como un mayor flujo génico entre éstas. Estos resultados soportan los resultados obtenidos de diferenciación interpoblacional F_{ST} , que muestran valores cercanos a cero entre las subpoblaciones de Tecocomulco vs Atlangatepec vs Ciénegas del Lerma vs Bajío, y valores de F_{ST} mayores a 0.10 entre las subpoblaciones anteriores y la subpoblación Altiplano Norte. El valor de F_{ST} es conceptualmente una medida de la magnitud del flujo génico entre subpoblaciones, estableciendo que en situaciones de bajo o nulo flujo génico los valores de F_{ST} incrementan y cuando el flujo génico es alto los valores de F_{ST} serán cercanos a cero (Hedrick 2005, Allendorf y Luikart 2007).

El limitado flujo génico entre la subpoblación Altiplano Norte y el resto de las subpoblaciones y viceversa, es suscitado posiblemente por la presencia de barreras montañosas, su carácter relativamente sedentario y por la falta de hábitat continuo a través de la región del altiplano norte de México que no permite la conexión poblacional con subpoblaciones de otras regiones geográficas del área de distribución de la especie. La altiplanicie mexicana está dividida fisiográficamente en dos regiones en sentido norte-sur: El Altiplano Norte y el Altiplano Centro. Esta división se da por la presencia de una serie de pequeñas serranías entre las Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental, denominadas Sierras Transversales (Tamayo 1985). A pesar de que estas serranías no son macizos montañosos continuos, podrían ser barreas

geográficas que limitan o impiden el flujo génico de los patos mexicanos hacia ambas altiplanicies.

En conjunción con lo anterior, las condiciones climáticas del Altiplano Norte podrían ser el factor más determinante en el flujo génico interpoblacional al incidir directamente sobre la falta de continuidad de hábitat en la región. El Altiplano Norte es una región caracterizada por ecosistemas semidesérticos a desérticos con clima árido y escasez de agua debido a que presenta los menores niveles de precipitación anual de todo el país con promedio de 300mm anuales y la mayor tasa de evaporación con más de 2000mm anuales en promedio e índice de sequía severa (Saunders y Saunders 1981, Tamayo 1985, Aguilar *et al.* 2000, Hernández y Valdez 2007). Estos factores climáticos por si mismos, determinan la existencia de cuerpos de agua y por lo tanto la disponibilidad de hábitat para el pato mexicano y otras aves a través de la región. Williams (1980) postuló que la aridez y la gran inestabilidad de precipitación en el norte y noreste de México impiden el establecimiento del pato mexicano en esa región, a diferencia de la tierras altas del centro de México donde la precipitación es estable y relativamente abundante con temperatura más templada que podría haber favorecido su establecimiento exitoso, y propone que esta región pudo ser el centro de origen del pato mexicano juzgado por la estabilidad climática que ha prevalecido en la región desde principios del Pleistoceno.

Paralelamente, la falta de hábitat continuo para el pato mexicano en el Altiplano Norte podría estar siendo exacerbada por la pérdida o desecación de humedales como consecuencia de las actividades humanas. El rápido crecimiento de la población humana en el Altiplano Norte ha conllevado a la pérdida de humedales superficiales por efecto de la alta demanda de agua para el consumo humano, el desarrollo industrial, la producción agrícola de riego, sumado a la deforestación y cambio de uso de suelo (Saunders y Saunders 1981, Aguilar *et al.* 2000). Saunders y Saunders (1981) hacen alusión que para el penúltimo cuarto del siglo XX, muchos de los humedales de invierno para las aves acuáticas en el altiplano norte habían sido desaparecidos o reducidos por efectos de deforestación, pérdida de cobertura herbácea, sobrepastoreo, erosión y construcción de presas cuenca arriba. Un caso notable fue la laguna de Mayran en la comarca lagunera en los municipios de Gómez Palacios, Durango y Torreón, Coahuila, la cual se desecó totalmente por causa de la construcción de presas (ej. Presa El Palmito) y el establecimiento de sistemas de riego cuenca arriba que impiden el flujo natural del agua cuenca abajo hacia la Laguna de Mayran (Goldman

1942 en Saunders y Saunders 1981, Arellano 1956). Recientemente, Aguilar *et al.* (2000) refieren que la región hidrológica Altiplano Norte es la de más uso intensivo de los recursos hídricos y la mayormente amenazada de todo el país. Dentro de dicha región, el ejemplo más dramático de pérdida de humedales ocurre en la región hidrológica Venado-Moctezuma en San Luis Potosí, donde el 90% de los humedales se han perdido por desecación, deforestación y sobreexplotación del agua (Aguilar *et al.* 2000).

En este sentido, cabe destacar que en toda la región de muestreo en Zacatecas se observó la pérdida de ambientes hídricos de vocación agrícola que fungen como hábitat para el pato mexicano, suscitado por la tecnificación de los sistemas de riego. Con base en mi experiencia y a que se sabe que el pato mexicano se ha visto favorecido por canales de riego y bordos de captación de agua pluvial para el riego de campos de cultivo al proveerle de alimento y agua convirtiéndose en hábitats preferentes (Leopold 1959, Williams 1980, Scott y Reynolds 1984, Medina *et al.* 2007), una proporción significativa de la búsqueda de los patos se realizó en ese tipo de ambientes. Se observó que muchos de los bordos estaban secos y que los canales de riego no operaban, manifestando condiciones de abandono, azolvamiento y destrucción. De acuerdo con pláticas con agricultores en el valle de Fresnillo, en toda la región se está dando una transición del sistema de riego por canales al sistema de riego por goteo, pues éste último les permite reducir costos de la construcción y mantenimiento de bordos de captación de agua pluvial y de canales de riego, y permite un uso más eficiente del agua que es escasa en la región. Los agricultores que conocen al pato mexicano mencionaron que éstos anidaban cerca de los canales o en los bordos, por lo que se infiere que el abandono y destrucción de los canales y la desecación deliberada de los bordos, esté ocasionando una reducción significativa del hábitat fragmentando su continuidad y limitando consecuentemente el flujo génico de esta región geográfica con otras, ya que dichos ambientes hídricos pueden funcionar como corredores que favorecen la expansión del pato mexicano (Scott y Reynolds 1984).

Los escenarios de las simulaciones de la sequía meteorológica en México frente al cambio climático proyectadas a los años 2025 y 2050, indican que la sequía severa aumentará y probablemente se extenderá en la mayor parte del Altiplano Norte (Hernández y Valdez 2007). Ante esta situación, y de mantenerse la pérdida de humedales por efecto de las actividades humanas, cabría esperar que las subpoblaciones de pato mexicano del Altiplano Norte manifestaran a futuro un mayor aislamiento genético con relación a las subpoblaciones del Centro de México, al limitar

severamente el flujo génico entre ambas regiones geográficas que eventualmente diera lugar a una estructura genética poblacional alta.

En términos generales, el bajo flujo génico supone que el pato mexicano manifiesta una conducta sedentaria así como posible filopatría al sitio de reproducción por parte de ambos sexos. La conducta sedentaria podría ser apoyada por el aparente carácter no migratorio de la especie (Leopold 1959, Williams 1980), asociado a la estabilidad del hábitat que se da por la prevalencia de temperaturas poco extremas, disponibilidad de alimento, agua y vegetación de cobertura (Williams 1980).

Se han propuesto diversas hipótesis para sugerir el número mínimo de migrantes por generación suficientes para homogeneizar la diversidad genética entre subpoblaciones. Inicialmente Wright (1966) propuso que se requiere un migrante por generación para homogeneizar la diversidad genética entre subpoblaciones. Sin embargo este modelo no se ajusta a la mayoría de las especies por lo que Lacy (1987) sugirió que el efecto homogeneizante es posible con más de 5 migrantes por generación. En este estudio, si bien el flujo génico es bajo, los bajos valores de F_{ST} entre subpoblaciones (Tecocomulco, Atlangatepec, Ciénegas del Lerma y Bajío) sugieren que tal flujo génico es suficiente para homogeneizar la diversidad genética entre subpoblaciones ajustándose al modelo de equilibrio mutación-deriva de Wright (1966), mientras que flujo génico por debajo de 1 migrante por generación favorecería la diferenciación poblacional tal como sucede entre la subpoblación Altiplano Norte y el resto de las subpoblaciones.

En términos generales, el flujo génico entre pares de subpoblaciones fue ligeramente asimétrico, con mayor movimiento de individuos hacia la subpoblación de Atlangatepec, pero sin evidencia de una tendencia unidireccional marcada hacia alguno de los dos grupos genéticos poblacionales (Cuadro 9). El alto flujo de individuos hacia la subpoblación Atlangatepec podría reflejar la colonización reciente que ha tenido el humedal desde su construcción hace 50 años. Adicionalmente, el flujo génico de colonización podría estar influido por la alta disponibilidad de alimento que representa el auge agrícola que prevalece en la región y que se extiende en un continuo hacia el noroeste al valle de Apan, Hidalgo. Las estimaciones de flujo génico entre los grupos genéticos poblacionales pudieron ser afectadas por el impacto de poblaciones fantasma o subpoblaciones no muestreadas (Beerli 2004) en la región Altiplano Norte de México. Simulaciones del efecto de poblaciones fantasma en la estimación de la tasa de migración (M) demuestran que sesgos altos pueden ocurrir cuando las poblaciones

fantasma tienen altas tasas de inmigración sobre las poblaciones muestreadas (Beerli 2004).

Por otro lado, el hecho de que las subpoblaciones de Atlangatepec y Bajío tengan un mayor flujo génico que el resto de las subpoblaciones, sugiere que podrían estar funcionando como subpoblaciones fuente, ligado posiblemente con el tamaño poblacional de la especie en estos sitios. Pérez-Arteaga *et al.*, (2002) designaron como sitio prioritario para la conservación del pato mexicano a los humedales de la región de Apan, donde está incluida la presa Atlangatepec, ya que albergan al 0.4% de la población total nacional. Por su parte, algunas poblaciones del Bajío mexicano como Languillo (Aguascalientes), Presa Solís (Guanajuato y Michoacán) y Zacapu (Michoacán) han manifestado un continuo incremento poblacional desde 1960 con una tasa de crecimiento anual promedio de 12.5% (Pérez-Arteaga *et al.* 2002). Históricamente, la región oeste del Bajío que comprende los estados de Jalisco, Michoacán y Guanajuato ha sido considerada la región que alberga la mayor proporción poblacional de patos mexicanos de todo México (Williams 1980, Pérez-Arteaga *et al.* 2002), al punto que Leopold (1959) catalogó a la región como el centro de abundancia de la especie. Williams (1980) hace referencia a que en un documento no publicado del Servicio de Pesca y Vida Silvestre de los Estados Unidos (U.S. Fish and Wildlife), George B. Saunders analizó la información de los primeros censos aéreos de medio invierno realizados en la década de 1930 por el U.S. Fish and Wildlife en México y encontró que el 83% de la distribución del pato mexicano ocurría en la porción oeste de las tierras altas del centro de México. Por consiguiente, el flujo génico de la subpoblación Bajío podría ser un efecto denso-dependiente que ocasiona que los patos mexicanos se dispersen a otras regiones.

Dado que los microsatélites utilizados son de herencia biparental, los resultados no indican si el flujo génico es sesgado hacia alguno de los dos sexos, de modo que resulta imprescindible hacer análisis de flujo génico con microsatélites ligados al sexo o con marcadores de ADN mitocondrial que permitan dilucidar el papel de ambos sexos en el flujo génico, información que sería clave para futuras acciones de manejo a través de la translocación de individuos.

Estudios complementarios de marcaje de individuos con marcadores satelitales, radios transmisores o anillos de identificación son imperativos a fin de obtener información complementaria sobre los patrones, épocas y distancias de dispersión o migración ecológica y de flujo génico así como para determinar filopatría. Estas

técnicas también permitirían identificar pulsos migratorios precedidos de alteraciones, perturbación y/o pérdida de hábitat que generen el movimiento de individuos de una subpoblación en busca de nuevo hábitat.

Morfometría

La comparación de las variables morfológicas entre sexos fue consistente con lo reportado por diversos autores (Leopold 1959, Aldrich y Baer 1970, Scott y Reynolds 1984). En todas los casos los machos fueron significativamente más grandes que las hembras. En las subpoblaciones en las que no hubo diferencia significativa entre machos y hembras, es probable que los resultados hayan sido determinados por el pequeño tamaño de muestra de alguno de los dos sexos.

De todas las variables morfológicas evaluadas, diferencias significativas interpoblacionales ocurrieron solamente en la longitud del culmen, longitud del ala y longitud de la cabeza. De estas, sólo la longitud del culmen manifestó diferencias significativas en ambos sexos, mostrando un patrón de diferenciación geográfico similar al de la estructura genética poblacional, indicando que el culmen de los patos mexicanos del Altiplano Norte son significativamente más pequeños respecto al culmen de los patos mexicanos del resto de las subpoblaciones. Estos resultados sugieren que esta variable morfológica puede ser usada como indicador del origen poblacional de los patos mexicanos. Sin embargo, es necesario seguir evaluando este carácter morfológico en un mayor número de individuos, particularmente del Altiplano Norte, para dar mayor validez al resultado, ya que el limitado tamaño de muestra usado en este estudio para dicha región geográfica fue pequeño para los dos sexos ($n_{\text{hembras}} = 3$; $n_{\text{machos}} = 5$) y podría no reflejar la situación real. A la fecha no existen evaluaciones previas de este carácter morfológico entre individuos de subpoblaciones de toda el área de distribución de la especie pero Scott y Reynolds (1984) no encontraron diferencias entre individuos de subpoblaciones del norte, altiplano y lago de Chapala.

En el caso de la longitud del ala y longitud de la cabeza, estas fueron significativamente diferentes en los machos, para el primer caso, y en las hembras para el segundo, sin embargo las diferencias ocurrieron sólo entre algunos pares de poblaciones que fueron distintos para cada sexo. Así pues, estas variables

morfométricas no tienen un patrón consistente que permita establecer una estructuración geográfica morfológica.

Los análisis de componentes principales no muestran un patrón en la separación morfológica entre subpoblaciones indicando que las variables morfológicas son similares en todas las subpoblaciones muestreadas. Por lo tanto, las variables morfológicas evaluadas no coinciden con la estructuración genética poblacional, validando la hipótesis de este estudio.

VIII. Conclusiones

El pato mexicano presenta una estructura genética poblacional conformada por dos poblaciones genéticamente diferentes: la población 1, conformada por la subpoblación Altiplano Norte (Chihuahua y Zacatecas) y la población 2, conformada por las subpoblaciones Bajío (Chapala y Cuitzeo), Ciénegas del Lerma, Atlangatepec y Tecocomulco, por lo que para el manejo de la especie se tiene que formular una estrategia de manejo para cada grupo genético y evitar la translocación de individuos entre grupos genéticos.

La estructura genética poblacional coincide con la estructura poblacional fenotípica de la coloración del plumaje, por lo que esta puede ser un indicador confiable para conocer la procedencia genética de los individuos.

La subpoblación Bajío se considera como el sitio de mezcla o el límite genético de ambas poblaciones genéticas.

La diversidad genética total de pato mexicano es intermedia respecto a la de patos migratorios con poblaciones grandes, y similar a la de otros patos no migratorios.

La subpoblación Ciénegas del Lerma posee la diversidad genética más alta del grupo genético 1, en tanto que la subpoblación Atlangatepec tiene la menor diversidad genética.

A nivel global, el pato mexicano manifiesta flujo génico interpoblacional bajo (1 a 2 migrantes por generación), considerándose una especie sedentaria.

El flujo génico es limitado entre las subpoblaciones del Altiplano Centro con la del Altiplano Norte.

El pato mexicano no ha pasado por cuellos de botella genéticos recientes en ninguna subpoblación ni en ninguno de los dos grupos genéticos poblacionales, pero en general manifiesta un crecimiento poblacional que es consistente con la tendencia poblacional.

El tamaño de los individuos, la longitud del ala, la longitud del tarso, el ancho del culmen, la longitud y ancho de la cabeza no tienen un patrón de diferenciación consistente con la estructuración genética poblacional, por lo que no son un reflejo de la situación genética de la especie.

La longitud del culmen en ambos sexos tiene un patrón de diferenciación poblacional consistente con la estructura genética poblacional que pudiera ser un indicador del origen genético de los individuos siempre y cuando se valide con una evaluación exhaustiva de un número estadísticamente significativo de individuos de ambas poblaciones genéticas.

X. Literatura citada

- Aguilar, V., L. Arriaga, J. Alcocer, E. Vázquez-Domínguez y C. Aguilar 2000. Regionalización de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio). En Arriaga, C. L., S.V. Aguilar y D.J. Alcocer. Aguas continentales y diversidad biológica de México. Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. México, D.F. Pp35-47
- Aldrich, J.W. y K.P. Baer 1970. Status and speciation in the mexican duck (*Anas diazi*). Wilson Bull. 82: 63-73.
- Allendorf, F.W. y G. Luikart. 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom
- Anderholm, S., R.C. Marshall, H. P. Van der Jeugd, P. Waldeck, K. Larsson y M. Andersson 2009. Nest parasitism in the barnacle goose: evidence from protein fingerprinting and microsatellites. Animal behaviour 78: 167-174.
- Anderson, M.G., J.M. Rhymer y F.C. Rowher 1992. Philopatry, dispersal and the genetic structure of waterfowl populations. En Batt, B.D., A.D. Afton, M.G. Anderson, C.D. Ankney, D.H. Johnson, J.A. Kadlec y G.L. Krapu (Eds). Ecology and management of breeding waterfowl. University of Minnesota Press, Minneapolis, MN. Pp. 365-395
- Arellano, M. 1956. El hábitat de las aves acuáticas migratorias en la altiplanicie mexicana. Pag. 119-235. En Arellano, M. y M.P. Rojas. Aves acuáticas migratorias en México I. Instituto Mexicano de Recursos Naturales renovables, A.C. México, D.F.
- Avise, J.C. 2004. Molecular markers, natural history and evolution. Second edition, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Balloux, F. y N. Lugon-Moulin 2002. The estimation of population differentiation with microsatellites markers. Molecular ecology 11: 155-165
- Barton, N.H. y M. Slatkin 1986. A quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. Heredity 56: 409-415
- Berli, P. 2004. Effect of unsampled populations on the estimation of populations sizes and migration rates between sampled populations. Molecular ecology 13: 827-836
- Berli, P. 2006. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters. Bioinformatics 22 (3): 341-345
- Berli, P. 2008. Migrate version 3.0 - a maximum likelihood and Bayesian estimator of

- gene flow using the coalescent. Distributed over the internet at <http://popgen.scs.edu/migrate.html>.
- Beerli, P. y J. Felsenstein 2001. Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population size in n subpopulations by using coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 98: 4563-4568.
- Bellrose, F.C. 1980. Ducks, geese and swans of North America. Harrisburg: Stackpole books.
- Brodsky, L.M. y P.J. Weatherhead 1984. Behavioral and ecological factors contributing to American black duck-mallard hybridization. *Journal of Wildlife Management* 48: 846-852.
- Brookfield, J.F.Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Mol. Ecol.* 5: 453-455.
- Bruford, M.W., D.J. Cheesman, T. Coote, H.A.A. Green, S.A. Haines, C. O'ryan y T.R. Williams 1996. Microsatellites and their application to conservation genetics. En Smith, T.B. y R. K. Wayne. *Molecular genetic approaches in conservation*. Oxford University Press, New York.
- Buchholz, W.G., J.M. Pearce, B.J. Pierson y K.T. Scribner 1998. Dinucleotide repeat polymorphism in waterfowl (family anatidae): Characterization of a sex-linked (Z-specific) and 14 autosomal loci. *Animal genetics* 29: 323-325
- Butler, M.J. 2005. *Forensic DNA typing; biology, technology and STR markers*. 2ª Ed. Elsevier Academic Press
- Cathey, J.C. 1997. Assessing genetic variation in natal populations of small Canada geese via microsatellite loci. Tesis de Doctorado en Ciencia en Vida Silvestre, Texas Tech University.
- Chakraborty, R., M. De Andrade, S. P. Daiger y B. Budowle 1992. Apparent heterozygote deficiencies observed in DNA typing data and their implications in forensic applications. *Annals of Human Genetics* 56: 45-47.
- Chapuis, M.P. y A. Estoup 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.* 24 (3): 261-631
- Cheng, H. H. y L. B. Crittenden 1994. Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken. *Poultry Sci.* 73:539-546.
- Cockerham, C.C. 1973. Analysis of gene frequencies. *Genetics* 74: 679-700
- Colón, Q.D. 2009. Composición de la dieta de otoño del pato mexicano (*Anas diazi*) en el vaso sur de las ciénegas del Lerma, Estado de México. *Revista Mexicana de*

- Biodiversidad 80: 193-202
- Corbin, K.W., B.C. Livezey y P.S. Humphrey 1988. Genetic differentiation among steamer-ducks (Anatidae: Tachyeres): An electrophoretic analysis. *The Condor* 90: 773-781
- Cornuet, J.M. y G. Luikart 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144: 2001-2014
- Denk, A.G., B. Gautschi, K. Carter y B. Kempnaers 2004. Seven polymorphic microsatellite loci for paternity assessment in the mallard (*Anas platyrhynchos*). *Molecular Ecology Notes* 4: 506-508
- Dieringer, D. y C. Schlötterer 2003. Microsatellite Analyser (MSA): A platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes* 3: 167-169.
- Ellegren, H. 1991. Fingerprinting birds DNA with a synthetic polynucleotide probe (TG)_n. *Auk* 108: 956-958.
- Espinosa de los Monteros, A. 2003. Sistemática y evolución molecular: Su importancia en la conservación de las aves. En Gómez de Silva, H y Oliveras de Ita, A. 2003. *Conservación de aves: experiencias en México. Sección mexicana del consejo internacional para la preservación de las aves, A.C. CIPAMEX.*
- Evanno, G. S. Regnaut y J. Goudet 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology* 14: 2611-2620
- Excoffier, L. G. Laval, y S. Schneider 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- Felsenstein, J. 1989. PHYLIP; Phylogeny Inference Package v. 3.2. *Cladistics* 5: 164-166.
- Fields, R. L. y K.T. Scribner 1997. Isolation and characterization of novel waterfowl micro-satellite loci: cross-species comparison and research applications. *Molecular Ecology* 6: 161-164.
- Flint, P.L., K. Ozaki, J.M. Pearce, B. Guzzetti, H. Higuchi, J.P. Fleskes, T. Shimada y D.V. Derksen 2009. Breeding-season sympatry facilitates genetic exchange among allopatric wintering populations of Northern pintails in Japan and California. *The Condor* 111 (4): 591-598.
- Fleskes, J.P., A.C. Fowler, M.L. Casazza y J.M. Edie 2010. Population structure and

- relatedness among female northern pintails in three California wintering regions. *Waterbirds* 33(1): 1-9
- Fowler, A.C, J.M. Eadie y A. Jr. Engilis 2009. Identification of endangered Hawaiian ducks (*Anas wyvilliana*), introduced North American mallards (*A. platyrhynchos*) and their hybrids using multilocus genotypes. *Conservation genetics* 10 (6): 1747-1758
- Frankham, R., J.D. Ballou y D.A. Briscoe 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge University Press.
- Golstein, D.B., L.A. Zhivotovsky, K. Nayar, L.A. Ruíz, L.L. Cavalli-Sforza y M.W. Feltman 1996. Statistical properties of the variation at linked microsatellite loci: implications for the history of human Y-chromosome. *Molecular Biology and Evolution* 13: 1213-1218
- González-Bernal, M.A., J.A. Castillo-Guerrero, C.R. Hernández-Celis y E. Mellink. 2007. Noteworthy birds records from Sinaloa, Mexico. *Western Birds* 38: 52-56
- González, O.L.A. 1995. Algunos aspectos sobre la biología y ecología reproductiva del pato mexicano (*Anas diazi*) en el ex lago de Texcoco. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Goudet, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995)
- Greenwood, P.J. y P.H. Harvey 1982. The natal and breeding dispersal of birds. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13:1-21
- Guay, P.J., R.T. Chesser, R.A. Mulder, A.D. Afton, D.C. Paton y K.G. McCracken 2010. East-west genetic differentiation in Musk ducks (*Biziura lobata*) of Australia suggests late Pleistocene divergence at the Nullarbor Plain. *Conservation genetics* 11: 2105-2120.
- Guo, S.W. y E.A. Thompson 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372
- Gupta, M., Y .S. Chyi, J. Romero-Sverson y J. L. Own 1996. Amplification of DNA markers from evolutionary diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theoretical Applied Genetics* 89: 998-1006.
- Haldane, J.B.S. 1954. An exact test for randomness of mating. *Journal of Genetics* 52: 631-635
- Hamada, H., M. G. Petrino, T. Kakunaga, M. Seidman y B.D. Stollar 1984.

- Characterization of genomic poly (dT-dG) poly (dC-dA) sequences: Structure, organization and conformation. *Mol. Cell. Biol.* 4: 2610-2621
- Hardy, O. J. & X. Vekemans 2002. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes* 2: 618-620.
- Hardy, O.J., N. Charbonnel, H. Fréville y M. Heuertz 2003. Microsatellite allele sizes: A simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics* 163: 1467-1482
- Hartl, D.L. y A.G. Clark 1997. Principles of population genetics. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, M.A.
- Hedrick, P.W. 2005. Genetics of Populations. Third edition. Jones and Bartlet, Press, Sadbury, Massachusetts, USA.
- Hernández, C. M. E. y M. G. Valdez 2007. Sequía metereológica1. Disponible en <http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/437/hernandez.html>
- Huang, Y., Y. Zhao, C.S. Haley, S. Hu, J. Hao, C. Wu y N. Li 2006. A genetic and cytogenetic map for the duck (*Anas platyrhynchos*). *Genetics* 173: 287-296.
- Hubbard, J.P. 1977. The biological and taxonomic status of the Mexican duck. New Mexico Dep. Game Fish Bull. 16: 1-56
- Johnsgard, P. A. 1961. Evolutionary relationships among the North American mallards. *Auk* 78: 3-43
- Johnsgard, P.A. 1978. Ducks, geese, and swans of the world. University of Nebraska Press, Lincoln.
- Johnson, K. P. y M. D. Sorenson 1999. Phylogeny and biogeography of dabbling ducks (Genus: *Anas*): A comparison of molecular and morphological evidence. *The Auk* 116 (3): 792-805
- Kalinowski S.T., A.P. Wagner y M.L. Taper 2006. ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes* 6:576-579.
- Kulikova, I. V., S. V. Drovetski, D. D. Gibson, R. J. Harrigan, S. Rohwer, K. Winker, Y. N. Zhuravlev y K. J. McCracken 2005. Phylogeography of the mallard (*Anas platyrhynchos*): hibridation, dispersal and lineage sorting contribute to complex geographic structure. *The Auk* 122 (3): 949-965.
- Lacy, R.C. 1987. Loss of genetic diversity from managed populations: interacting effects of drift, mutation, immigration, selection and population subdivision.

- Conservation Biology 1(2): 143-158
- Lanctot, R., B. Goatcher, K. Scribner, S. Talbot, B. Pierson, D. Esler y D. Zwiefelhofer 1999. Harlequin duck recovery from the Exxon Valdez oil spill: A population genetics perspective. *The Auk* 116 (3): 781-791
- Leopold, A.S. 1959. *Wildlife of Mexico*. Berkley, C.A: University of California Press.
- Levinson, G. y G. A. Gutman. 1987. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Molecular Biology and Evolution* 4:203-221.
- Li, H., N. Yang, K. Chen, G. Chen, Q. Tang, Y. Tu, Y. Yu y Y. Ma 2006. Study on molecular genetic diversity of native duck breeds in China. *World's Poultry Science Journal* 62: 603- 611
- Llerena, F., B. Sánchez, M. Martínez, H. Lara Rosales y R. López 2004. Plan de manejo para la conservación del suelo y agua en la cuenca que abastece a la presa Atlangatepec en el estado de Tlaxcala. Universidad Autónoma Chapingo, Colegio de Postgraduados. Edo. Méx. 11p.
- Luikart, G., F.W. Allendorf, J.M. Cornuet y W.B. Sherwin 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity* 89: 238-247.
- Maak, S., K. Wimmers, S. Weigend y K. Neumanns. 2003. Isolation and characterization of 18 microsatellites in the Peking duck (*Anas platyrhynchos*) and their application in other waterfowl. *Molecular Ecology Notes* 3: 224-227.
- McCracken, K.G., W.P. Johnson y F.H. Sheldon 2001. Molecular population genetics, phylogeography, and conservation biology of the mottled duck (*Anas fulvigula*). *Conservation genetics* 2: 87-102.
- Mank, J.E., J.E. Carlson y M.C. Brittingham 2004. A century of hybridization: Decreasing genetic distance between American black ducks and mallards. *Conservation genetics* 5: 395-403
- Mazourek, J.C. y P.N. Gray 1994. The Florida duck or the Mallard?. *Fl. Wildlife* 48: 29-31.
- Medina, T. S. M., O. M. Márquez y M. E. García. 2007. Uso y selección de embalses por el pato mexicano (*Anas diazi*) en la región del Llano, Aguascalientes-Jalisco, México. *Acta Zoológica Mexicana* 23 (002): 163-181
- Muñoz-Fuentes V., A.J. Green y M.D. Sorenson 2008. Comparing the genetics of wild and captive populations of white-headed ducks *Oxyura leucocephala*: consequences for recovery programmes. *Ibis* 150: 807-815

- Nei, M., F. Tajima y Y. Tateno 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution* 19: 153-170
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York, U.S.A.
- North American Waterfowl Management Plan, Plan Committee. 2004. *North American Waterfowl Management Plan 2004. Strategic Guidance: Strengthening the Biological Foundation*. Canadian Wildlife Service, U.S. Fish and Wildlife Service, Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Canada. 22p.
- Oring, L.W. y R.D. Saylor 1992. The mating systems of waterfowl. En Batt, B.D., A.D. Afton, M.G. Anderson, C.D. Ankney, D.H. Johnson, J.A. Kadlec y G.L. Krapu (Eds). *Ecology and management of breeding waterfowl*. University of Minnesota Press, Minneapolis, MN. 190-213
- Oosterhout, V.C., W.F. Hutchinson, D.P.M. Willis y P. Shipley 2004. MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular ecology notes* 4: 535-538
- Oyler-McCance, S.J., F.A. Ransler, L.K. Berkman y T.W. Quinn 2007. A rangewide population genetic study of trumpeter swans. *Conservation genetics* 8: 1339-1353
- Palacios, E. y E. Mellink. 1995. Breeding birds of esteros Tóbari and San José, Southern Sonora. *Western birds* 26: 99-103
- Pearce, J.M., S.L. Talbot, B.J. Pierson, M. R. Petersen, K.T. Scribner, D.L. Dickson y A. Mosbech. 2004. Lack of spatial genetic structure among nesting and wintering king eiders. *The Condor* 106: 229-240
- Pearce, J.M., S.L. Talbot, M.R. Petersen y J.R. Rearick 2005. Limited genetic differentiation among breeding, molting, and wintering groups of the threatened Steller's eider: the role of historic and contemporary factors. *Conservation genetics* 6: 743-757
- Pérez-Arteaga, A., J.K. Gaston y M. Kershaw. 2002. Population trends and priority conservation sites for mexican duck *Anas diazi*. *Bird Conservation International* 12: 35-52.
- Pérez-Arteaga, A. y J.K. Gaston 2004. Wildfowl population trends in Mexico, 1961-2000: a basis for conservation planning. *Biological conservation* 115: 343-355.
- Pierson, B.J., J.M. Pearce y S.L. Talbot 2000. Molecular genetics status of Aleutian Canada geese from Buldir and the Semidi Islands, Alaska. *The Condor* 102:

172-180

- Pimm, S.L., J.L. Gittleman, G.F. McCracken y M.E. Gilpin 1989. Plausible alternatives to bottlenecks to explain reduced genetic diversity. *Trends Ecol. Evol.* 4: 176-178
- Pitelka, F. A. 1948. Notes on the distribution and taxonomy of Mexican game birds. *Condor* 50: 113-123
- Primmer, C.R., H. Ellegren, N Saino y A. P. Moller 1996. Directional evolution in germline microsatellite mutations. *Nature Genet.* 13: 391-393
- Pritchard, J.K., M. Stephens y P. Donell. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Raymond, M. y F. Rousset 1995. GENEPOP v. 4.0; Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* 86: 248-249.
- Rice, R. W. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43 (1): 223-225
- Rhymer, J.M. 2006. Extinction by hibridization and introgression in anatine ducks. *Acta Zoologica Sinica* 52: 583-585
- Roy, N.C.L., R.J. Gates y P.G. Parker 2006. Intraespecific nest parasitism of wood ducks in natural cavities: comparisons with nest boxes. *Journal of wildlife Management* 70 (3): 835-843
- Russel, S.M. y G. Mmson. 1998. *The birds of Sonora*. University of Arizona Press, Tucson, U.S.A.
- Sambrook, J. E.F. Fritsch y T Maniatus 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2^a Ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
- Saunders, G.B. y D.C. Saunders. 1981. *Waterfowl and their wintering grounds in Mexico, 1937-1964*. Washington, D.C.: U.S. Fish and Wildlife Service (Resource publication 138).
- Secretaria de Medio Ambiente y Recursos naturales (SEMARNAT) 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. *Diario oficial de la federación*: 1-85
- Selkoe, K.A. y R.J. Toonen 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology letters* 9: 615-629
- Scott, N.J., Jr. y R.P. Reynolds. 1984. Phenotypic variation of the Mexican duck (*Anas platyrhynchos diazi*) in Mexico. *Condor* 86: 266-274

- Scribner, K. T. y T.D. Bowman 1998. Microsatellites identify depredated waterfowl remains from glaucous gull stomachs. *Molecular Ecology* 7: 1401-1405
- Scribner, K.T., M.R. Petersen, R. L. Fields, S.L. Talbot, J.M. Pearce y R. K. Chesser. 2001. Sex-biased gene flow in spectacled eiders (*Anatidae*): Inferences from molecular markers with contrasting modes of inheritance. *Evolution* 55 (10): 2105-2115
- Scribner, K.T., S.L. Talbot, J.M. Pearce, B.J. Pierson, K.S. Bollinger y D.V. Derksen. 2003. Phylogeography of Canada geese (*Branta canadensis*) in western North America. *The Auk* 120 (3): 889-907.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236: 787-792.
- Slatkin, M. y W.P. Maddison 1989. A cladistic measure of gene flow inferred from the phylogenies of Alleles. *Genetics* 123 (3): 603-6013
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457-462
- Sonsthagen, S.A., S.L. Talbot y K. G. McCracken. 2007. Genetic characterization of common eiders breeding in the Yukon-Kuskokwim delta, Alaska. *The Condor* 109: 878-893
- Talbot, S.L., J.M. Pearce, B.J. Pierson, D.V. Derksen y K.T. Scribner 2003. Molecular status of the dusky Canada goose (*Branta canadensis occidentalis*): A genetic assessment of a translocation effort. *Conservation genetics* 4: 367-381
- Tamayo, J.L. 1985. Geografía moderna de México. Ed. Trillas, México, 9ª Edición. 400p.
- Templeton, A.R. 2006. Population genetics and microevolutionary Theory. John Wiley and Sons, Inc, New Jersey, United States.
- Tiedemann, R., K. G. Von Kistowski y H. Noer. 1999. On sex-specific dispersal and mating tactics in the common eider *Somateria mollissima* as inferred from the genetic structure of breeding colonies. *Behaviour* 136: 1145-1155
- Triggs, S.J., M.J. Williams, S.J. Marshall y G.K. Chambers 1992. Genetic structure of blue duck (*Hymenolaimus malacorhynchos*) populations revealed by DNA fingerprinting. *The Auk* 109 (1): 80-89
- Weber, J.L. y C. Wong 1993. Mutations of human short tandem repeats. *Human Molecular Genetics* 2: 1123-1128
- Weir, B.S. 1996. Genetic Data Analysis II. Sinauer Associates Sunderland,

Massachusetts.

- Weir, B.S. y C. C. Cockerham 1984. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38 (6): 1358-1370
- Williams, S.O. III. 1980. The Mexican duck in Mexico: natural history, distribution and population status. Ph. D Thesis. Colorado State University, Fort Collins, CO.
- Williams, C.L., R.C. Brust y O. E. Rhodes Jr. 2002. Microsatellite polymorphism and genetic structure of Florida Mottled duck populations. *The Condor* 104: 424-431.
- Williams, C.L., A.M. Fedynich, D.B. Pence y O.E. Rhodes Jr. 2005. Evaluation of allozyme and microsatellite variation in Texas and Florida Mottled ducks. *The Condor* 107: 155-161.
- Williams, C.L., Brust R.C., Fendley T.T., Tiller Jr G.R. y O.E. Rhodes Jr 2005. A comparison of hybridization between mottled ducks (*Anas fulvigula*) and mallards (*A. platyrhynchos*) in Florida and South Carolina using microsatellites DNA analysis. *Conservation genetics* 6: 445-453
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15: 323-354.
- Young, G. 2005. Mexican duck, *Anas diazi*. En Kear, J. (ed). *Ducks, geese and swans*. Vol. 2. Oxford University Press, United States. Pp. 521-523

XI. Anexos

Anexo 1. Clave para elegir el estimador nulo apropiado de los 4 algoritmos presentados en MicroChecker.

1. Todas las muestras analizadas amplificaron
*Sí: Usar ecuación 1 de Brookfield
*NO: Ir a paso 2
2. ¿Está seguro que las muestras no amplificadas representan homocigos alelos nulos?
*Sí: Usar ecuación 2 de Brookfield
3. ¿Está completamente seguro que las muestras no amplificadas no amplificaron debido a degradación de ADN (Ej. No amplificaron en otros loci)?
*Sí: Elimine esas muestras y use la ecuación de Chakraborty et al (1992)
4. ¿Cree que las muestras no amplificadas son "artefactos" y podrían ser alelos nulos, ADN degradado o problemas con la PCR?
*Sí: Elimine esas muestras y use la ecuación 1 de Brookfield y Van Oosterhout et al

Anexo 2. Frecuencias alélicas de cada locus para las 5 poblaciones de estudio. Los valores en negritas y subrayados son las frecuencias de los alelos raros. Alelos privados (*).

Locus /Alelos	Población				
	Tecocomulco	Atlangatepec	Ciénegas del Lerma	Bajío	Altiplano Norte
Locus Bcaμ6					
143	0	0	0	0	0,444*
145	0,933	0,882	0,833	0,938	0,167
147	<u>0,067</u>	0,118	0,167	<u>0,063</u>	0,222
149	0	0	0	0	0,167*
Locus S fiμ 2					
363	<u>0,042</u>	0	0	0	<u>0,077</u>
365	0,167	0,324	0,222	0,375	0,538
369	0,125	<u>0,059</u>	0	<u>0,063</u>	<u>0,038</u>
371	0,25	0,529	0,444	0,313	0,192
373	0,167	0	0,111	0	0
375	0,167	<u>0,068</u>	<u>0,056</u>	<u>0,063</u>	0,115
381	<u>0,063</u>	0	0,167	0,188	<u>0,038</u>
Locus S fiμ 4					
125	0	0	0	0	<u>0,038*</u>
133	0,1	<u>0,059</u>	<u>0,05</u>	0	0
137	0,7	0,794	0,675	0,625	0,731
139	<u>0,067</u>	<u>0,029</u>	0,1	0,125	<u>0,077</u>
141	<u>0,033</u>	<u>0,059</u>	<u>0,075</u>	<u>0,063</u>	0
143	<u>0,067</u>	0	<u>0,025</u>	<u>0,063</u>	<u>0,038</u>
145	0	<u>0,029</u>	<u>0,05</u>	0,125	0,115
147	0	<u>0,029*</u>	0	0	0
149	<u>0,033</u>	0	<u>0,025</u>	0	0
Locus Apl1					
88	0	0	0	0	0,269*
90	0,267	0,382	0,525	0,438	0,115
92	<u>0,067</u>	0,147	0,125	0,25	0
94	0	0	<u>0,025</u>	0,125	0,192
96	<u>0,033</u>	0	0	0	<u>0,038</u>
98	0,233	0,147	0,1	<u>0,063</u>	0,154
100	0	0	<u>0,025</u>	<u>0,063</u>	0
102	0,267	0,118	<u>0,075</u>	0	0
104	0	<u>0,059</u>	0	<u>0,063</u>	<u>0,038</u>
106	<u>0,067</u>	0,147	<u>0,075</u>	0	0,115
108	<u>0,033</u>	0	<u>0,025</u>	0	<u>0,038</u>
110	0	0	<u>0,025</u>	0	<u>0,038</u>
114	<u>0,033*</u>	0	0	0	0
Locus Aph21					
129	<u>0,033</u>	<u>0,029</u>	<u>0,053</u>	0	<u>0,038</u>
131	<u>0,067</u>	<u>0,059</u>	0,105	<u>0,063</u>	0
133	0,167	<u>0,059</u>	0,105	0	<u>0,077</u>
135	<u>0,033</u>	<u>0,059</u>	<u>0,026</u>	0,125	0,192
137	0,267	<u>0,068</u>	0,158	0,25	0,154
139	0,133	0,324	0,105	0,188	0,192
141	0,167	0,176	0,184	0,25	0,231
143	0	<u>0,029</u>	<u>0,026</u>	0	0
145	0	0	<u>0,026</u>	<u>0,063</u>	0
147	<u>0,033</u>	<u>0,029</u>	0,105	<u>0,063</u>	<u>0,038</u>
149	<u>0,067</u>	<u>0,029</u>	<u>0,026</u>	0	<u>0,077</u>
151	0	<u>0,029</u>	<u>0,026</u>	0	0
155	<u>0,033</u>	<u>0,059</u>	0	0	0
161	0	0	<u>0,026*</u>	0	0
165	0	<u>0,029</u>	<u>0,026</u>	0	0
Locus Bcaμ11					
130	1	0,971	0,944	1	0,808
132	0	<u>0,029</u>	<u>0,056</u>	0	0,115
134	0	0	0	0	<u>0,077*</u>

Anexo 3. Prueba de desequilibrio de ligamiento.

Subpoblación	Locus 1	Locus 2	p	d.e
Tecocomulco	Bcaμ 6	Sfij 2	0,8911	0,0054
Tecocomulco	Bcaμ 6	Sfij 4	1	0
Tecocomulco	Sfij 2	Sfij 4	0,6888	0,0294
Tecocomulco	Bcaμ 6	Apl11	0,8072	0,0068
Tecocomulco	Sfij 2	Apl11	0,1309	0,0234
Tecocomulco	Sfij 4	Apl11	0,6127	0,0296
Tecocomulco	Bcaμ 6	Aph21	1	0
Tecocomulco	Sfij 2	Aph21	1	0
Tecocomulco	Sfij 4	Aph21	0,1636	0,0277
Tecocomulco	Apl11	Aph21	1	0
Tecocomulco	Bcaμ 6	Bcaμ 11	S/D	
Tecocomulco	Sfij 2	Bcaμ 11	S/D	
Tecocomulco	Sfij 4	Bcaμ 11	S/D	
Tecocomulco	Apl11	Bcaμ 11	S/D	
Tecocomulco	Aph21	Bcaμ 11	S/D	
Atlangatepec	Bcaμ 6	Sfij 2	0,1693	0,0038
Atlangatepec	Bcaμ 6	Sfij 4	1	0
Atlangatepec	Sfij 2	Sfij 4	0,8633	0,0113
Atlangatepec	Bcaμ 6	Apl11	0,493	0,0087
Atlangatepec	Sfij 2	Apl11	0,7816	0,0185
Atlangatepec	Sfij 4	Apl11	0,3319	0,0279
Atlangatepec	Bcaμ 6	Aph21	0,6791	0,0079
Atlangatepec	Sfij 2	Aph21	1	0
Atlangatepec	Sfij 4	Aph21	0,7975	0,0212
Atlangatepec	Apl11	Aph21	1	0
Atlangatepec	Bcaμ 6	Bcaμ 11	1	0
Atlangatepec	Sfij 2	Bcaμ 11	0,4133	0,0064
Atlangatepec	Sfij 4	Bcaμ 11	1	0
Atlangatepec	Apl11	Bcaμ 11	1	0
Atlangatepec	Aph21	Bcaμ 11	0,6507	0,0086
C. Lerma	Bcaμ 6	Sfij 2	0,086	0,0045
C. Lerma	Bcaμ 6	Sfij 4	0,9511	0,004
C. Lerma	Sfij 2	Sfij 4	0,0903	0,0121
C. Lerma	Bcaμ 6	Apl11	0,7254	0,0118
C. Lerma	Sfij 2	Apl11	0,6567	0,0261
C. Lerma	Sfij 4	Apl11	0,697	0,0287
C. Lerma	Bcaμ 6	Aph21	0,8148	0,0129
C. Lerma	Sfij 2	Aph21	1	0
C. Lerma	Sfij 4	Aph21	1	0
C. Lerma	Apl11	Aph21	0,233	0,0388
C. Lerma	Bcaμ 6	Bcaμ 11	1	0
C. Lerma	Sfij 2	Bcaμ 11	0,6058	0,0072
C. Lerma	Sfij 4	Bcaμ 11	0,2553	0,0084
C. Lerma	Apl11	Bcaμ 11	0,6618	0,0096
C. Lerma	Aph21	Bcaμ 11	0,5772	0,0101
Bajío	Bcaμ 6	Sfij 2	1	0
Bajío	Bcaμ 6	Sfij 4	0,4957	0,0076
Bajío	Sfij 2	Sfij 4	1	0
Bajío	Bcaμ 6	Apl11	0,5052	0,0062
Bajío	Sfij 2	Apl11	1	0
Bajío	Sfij 4	Apl11	0,4328	0,0144
Bajío	Bcaμ 6	Aph21	S/I	
Bajío	Sfij 2	Aph21	S/I	
Bajío	Sfij 4	Aph21	S/I	
Bajío	Apl11	Aph21	S/I	
Bajío	Bcaμ 6	Bcaμ 11	S/D	
Bajío	Sfij 2	Bcaμ 11	S/D	
Bajío	Sfij 4	Bcaμ 11	S/D	
Bajío	Apl11	Bcaμ 11	S/D	
Bajío	Aph21	Bcaμ 11	S/D	
Alt. Norte	Bcaμ 6	Sfij 2	0,6535	0,0137
Alt. Norte	Bcaμ 6	Sfij 4	0,1646	0,0086
Alt. Norte	Sfij 2	Sfij 4	0,9703	0,004
Alt. Norte	Bcaμ 6	Apl11	0,3758	0,0151
Alt. Norte	Sfij 2	Apl11	0,7831	0,0137
Alt. Norte	Sfij 4	Apl11	0,7594	0,0145
Alt. Norte	Bcaμ 6	Aph21	0,18	0,0117
Alt. Norte	Sfij 2	Aph21	0,1683	0,014
Alt. Norte	Sfij 4	Aph21	0,5041	0,0171
Alt. Norte	Apl11	Aph21	0,0284	0,0087
Alt. Norte	Bcaμ 6	Bcaμ 11	0,8717	0,004
Alt. Norte	Sfij 2	Bcaμ 11	0,059	0,0044
Alt. Norte	Sfij 4	Bcaμ 11	0,8875	0,0044
Alt. Norte	Apl11	Bcaμ 11	0,2915	0,0085
Alt. Norte	Aph21	Bcaμ 11	0,7168	0,0086

d.e = desviación estandar

Anexo 4. Frecuencia de heterocigos y homocigos por locus y subpoblación.

Frecuencias de heterocigos y homocigos por subpoblación					
Locus	Ciénegas del Lerma	Tecomulco	Atlangatepec	Bajío	Altiplano Norte
Bcaμ6					
Heterocigos	0,22	0,13	0,23	0,12	0,33
Homocigos	0,77	0,86	0,76	0,88	0,66
Sfiμ2					
Heterocigos	0,33	0,5	0,47	0,63	0,54
Homocigos	0,66	0,5	0,53	0,37	0,46
Sfiμ4					
Heterocigos	0,55	0,46	0,35	0,38	0,31
Homocigos	0,45	0,53	0,65	0,62	0,69
Apl11					
Heterocigos	0,5	0,73	0,71	0,38	1
Homocigos	0,5	0,26	0,29	0,62	0
Aph21					
Heterocigos	0,79	0,6	0,71	0,75	0,62
Homocigos	0,21	0,4	0,29	0,25	0,38
Bcaμ11					
Heterocigos	0,22	0	0,06	0	0,23
Homocigos	0,88	1	0,94	1	0,77

Anexo 5. Frecuencia de alelos raros en cada subpoblación.

