



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Ecología

**ESTRUCTURA Y VARIABILIDAD GENÉTICA DE DOS ESPECIES DE
ROEDORES ENDÉMICOS DE LA ISLA COZUMEL, QUINTANA ROO**

TESIS

Que para optar por el grado de:

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

P R E S E N T A

SAYRA ROSIO ESPINDOLA BARRIENTOS

TUTORA PRINCIPAL:

DRA. ELLA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ, Instituto de Ecología, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA, Instituto de Ecología, UNAM

**DR. DAVID VALENZUELA GALVÁN, Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra
Huatla, UAEM**

MÉXICO, D.F.

Abril, 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Ecología

**ESTRUCTURA Y VARIABILIDAD GENÉTICA DE DOS ESPECIES DE
ROEDORES ENDÉMICOS DE LA ISLA COZUMEL, QUINTANA ROO**

TESIS

Que para obtener el grado académico de

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

P R E S E N T A

SAYRA ROSIO ESPINDOLA BARRIENTOS

TUTORA PRINCIPAL:

DRA. ELLA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ, Instituto de Ecología, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA, Instituto de Ecología, UNAM

**DR. DAVID VALENZUELA GALVÁN, Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra
Huautla, UAEM**

MÉXICO, D.F.

Abril, 2013

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 21 de enero de 2013, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de la **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **ESPINDOLA BARRIENTOS SAYRA ROSIO** con número de cuenta **406031068** con la tesis titulada: **"Estructura y variabilidad genética de dos especies de roedores endémicos de la isla Cozumel, Quintana Roo"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ**:

Presidente: DR. JORGE EDUARDO CAMPOS CONTRERAS
Vocal: DR. JORGE ORTEGA REYES
Secretario: DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA
Suplente: DRA. MARÍA DEL CARMEN MANDUJANO SÁNCHEZ
Suplente: DR. RODRIGO VEGA BERNAL

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 01 de abril de 2013.

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

c.c.p. Expediente de la interesada.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Este trabajo se llevó a cabo gracias al apoyo del Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM; a la beca de Maestría y Beca Mixta otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-245447); al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el proyecto “Conservación de la Isla Cozumel: diversidad genética de vertebrados, especies introducidas y perturbaciones naturales” (CONACyT-101861); al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica por el proyecto PAPIIT-IN217910; y a la asesoría de mi comité tutor Dra. Ella Vázquez, Dr. Juan Pablo Jaramillo y Dr. David Valenzuela.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Muchas son personas a las que quiero agradecer porque de una u otra forma han formado parte en la construcción de esta tesis, y que sin ellas, esta sería otra historia.

Gracias a la Doctora Ella, por confiar en mí y darme la oportunidad de hacer mío este proyecto, por permitirme ser parte de su equipo de trabajo, por su asesoría constante y sobre todo por sus enseñanzas y su amistad. Gracias también a mi comité tutor, los doctores Juan Pablo Jaramillo y David Valenzuela, y a los miembros del jurado, los doctores Jorge Campos, Jorge Ortega, Meli Mandujano y Rodrigo Vega, por mejorar y enriquecer este trabajo con sus comentarios. De manera especial agradezco al Doctor Oscar Gaggiotti, por recibirme en su laboratorio y por su asesoría y apoyo en los análisis que realicé durante mi estancia con él.

Gracias a la UNAM, al Posgrado en Ciencias Biológicas, al Instituto de Ecología y al CONACyT, por abrirnos las puertas y darnos la oportunidad de crecer y de colaborar con nuestro granito de arena a lo que nosotros los locos llamamos ciencia.

A todos mis compañeros de laboratorio por hacer siempre más amenas las horas en el Instituto; y en especial a Marco, Tania Garrido, Susette, Hugo, Tania Gutiérrez y Pablo por acompañarme en campo, compartirme sus experiencias y sufrir un poquito conmigo en esa “horrorosa isla” (*nótese la ironía*). Gracias también a Christopher González, al Ing. Juan Bonfil, a Sergio Suárez y a las autoridades de Cozumel, por el apoyo y las facilidades brindadas durante el trabajo de campo.

A mi compañeros del LECA, Florian, Marta, Pierre, Céline, Carla, Arthur, Marco, Caroline y Fred, por hacer de mi estancia en Grenoble la experiencia más inolvidable.

A mis padres, Rubén y María del Refugio, por su cariño y apoyo incondicional, por estar conmigo siempre, porque gracias a ellos soy lo que soy y estoy en donde estoy.

Gracias también a mis amigos, a todos sin excepción, por los ánimos, la compañía, los buenos ratos y las sonrisas que nunca me hicieron falta. A Vicente García, gracias por tu interés, por tus dudas, por escucharme aún cuando entendías poco de lo que estaba hablando y por las distracciones que de vez en cuando también hacían falta.

A mis ratones (sí, ¡míos!) también gracias, simplemente porque sin ellos, este trabajo no hubiese sido posible. Por ellos esta tesis, que espero contribuya a su conservación.

Gracias finalmente, a quien lea estas letras, porque eso significa que de alguna forma son parte ya de esto.

Con cariño,
Sayra Espindola

ÍNDICE

Resumen	viii
Abstract	ix
Capítulo 1: Antecedentes	1
Introducción	
1. Islas y poblaciones insulares	
2. Isla Cozumel, Quintana Roo	
3. Los roedores de Isla Cozumel, Quintana Roo	
<i>O. c. cozumelae</i>	
<i>R. spectabilis</i>	
4. Justificación	
Capítulo 2. Microsatélites: Caracterización de diez nuevos loci microsatélites para un roedor endémico en peligro de extinción, <i>R. spectabilis</i>	10
1. Introducción	
2. Nota técnica	
Capítulo 3: Diversidad genética y estructura poblacional de los roedores en Isla Cozumel	16
Introducción	
1. La variación genética dentro y entre las poblaciones	
2. Parámetros de diversidad genética	
3. Parámetros de estructura genética	
Hipótesis	21
Objetivos	21
Materiales y Método	22
1. Trabajo de campo y obtención de tejido	
2. Extracción de ADN	
3. Microsatélites y estandarización de PCR	
4. Análisis de fragmentos y obtención de genotipos	
5. Análisis de datos	
1. Presencia de tartamudeos y alelos nulos	
2. Definición de subgrupos en la población	
3. Diversidad genética	
4. Estructura genética	
5. Pruebas de parentesco y tamaño efectivo	
Resultados	29
1. Muestreo y número de individuos	
2. Presencia de alelos nulos y tartamudeos	
3. Definición de subgrupos y asignación de individuos	
4. Equilibrio Hardy-Weinberg	
5. Desequilibrio de ligamiento	
6. Diversidad genética	
7. Distribución de frecuencias alélicas, genotípicas y diferenciación	
8. Estructura y diferenciación genética	

9. Aislamiento por distancia	
10. Tamaño efectivo por población y parentesco	
11. Flujo génico	
Discusión	43
Conclusiones	48
Capítulo 4. Consecuencias genético-poblacionales de los huracanes Emily y Wilma en los roedores de Isla Cozumel	49
Introducción	
1. Huracanes y sus efectos	
2. Huracanes Emily y Wilma	
3. Cuellos de botella	
Hipótesis	54
Objetivos	55
Materiales y método	56
1. Trabajo de campo y obtención de tejido	
2. Trabajo de laboratorio	
3. Análisis de datos	
1. Análisis de diversidad y estructura genética	
2. Cuellos de botella	
3. Los efectos del cuello de botella	
Resultados	59
<i>Oryzomys couesi cozumelae</i>	59
1. Muestreo y éxito de captura	
2. Presencia de alelos nulos	
3. Definición de subgrupos	
4. Equilibrio Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento	
5. Diversidad genética	
6. Frecuencias alélicas, genotípicas y diferenciación	
7. Tamaño efectivo de la población y parentesco	
8. Cuellos de botella	
9. Efectos del cuello de botella	
<i>Reithrodontomys spectabilis</i>	67
1. Muestreo y éxito de captura	
2. Presencia de alelos nulos	
3. Definición de subgrupos	
4. Equilibrio Hardy-Weinberg	
5. Desequilibrio de ligamiento	
6. Diversidad genética	
7. Frecuencias alélicas, genotípicas	
8. Diferenciación	
9. Tamaño efectivo de la población y parentesco	
10. Cuellos de botella	
11. Efectos del cuello de botella	
Discusión	73
El efecto de los huracanes: cada especie tiene su propia historia que contar	

Las poblaciones de roedores: ¿se recuperan?

Perspectivas

Conclusiones 79

Referencias 80

Anexos 96

FIGURAS Y CUADROS

Capítulo 1

Figuras

Figura 1. Mapa de cobertura vegetal de Isla Cozumel.

Figura 2. Fotografía de *Oryzomys couesi cozumelae*.

Figura 3. Fotografía de *Reithrodontomys spectabilis*.

Capítulo 3

Figuras

Figura 1. Imagen de la Isla Cozumel con los puntos de muestreo establecidos.

Figura 2. Gráfico del porcentaje de asignación para cada localidad de muestreo de *R. spectabilis*.

Figura 3. Árbol filogenético con el método NJ de las localidades muestreadas de *R. spectabilis*.

Figura 4. Modelo lineal de aislamiento por distancia, en el que se observa la correlación entre distancia genética (F_{ST}) y geográfica (Km) entre pares de poblaciones de *R. spectabilis* por localidad de muestreo.

Cuadros

Cuadro 1. Porcentaje de asignación para cada localidad de muestreo de *R. spectabilis*.

Cuadro 2. Porcentaje de individuos asignados a algún cluster, en relación a la población de muestreo inicial de *R. spectabilis*.

Cuadro 3. Asignación de individuos de *R. spectabilis* a su población más probable después de detectar migrantes de primera generación.

Cuadro 4. Coeficiente de fijación F_{IS} de Weir y Cockerham para cada locus por grupo y para la población en conjunto de *R. spectabilis*.

Cuadro 5. Valores de diversidad genética obtenidos para los cuatro grupos y para la población en conjunto de *R. spectabilis*.

Cuadro 6. Valores de diversidad genética para la población en conjunto de *O. c. cozumelae*.

Cuadro 7. Número total de alelos y genotipos observados para cada locus de *R. spectabilis*.

Cuadro 8. Estadísticos F , G_{ST} y D_{EST} para *R. spectabilis*.

Cuadro 9. AMOVA basado en los valores de a) F_{ST} y b) R_{ST} , tomando como grupos los clusters obtenidos y como poblaciones las localidades muestreadas de *R. spectabilis*.

Cuadro 10. Distancia genética de Nei por locus calculadas entre pares de grupos de *R. spectabilis*.

Cuadro 11. F_{ST} locales para cada localidad de muestreo de *R. spectabilis*.

Cuadro 12. Estadísticos de diferenciación genética entre localidades muestreadas de *R. spectabilis*.

Cuadro 13. Tamaño efectivo para los cuatro grupos y la población en conjunto de *R. spectabilis*.

Cuadro 14. Relaciones de parentesco de *R. spectabilis* para cada grupo y para la población en conjunto.

Cuadro 15. Tasas de migración (a) y coeficientes de endogamia (b) de la última generación entre las poblaciones de *R. spectabilis*.

Capítulo 4

Figuras

Figura 1. Gráfico obtenido de STRUCTURE en donde se observa la asignación de individuos por población de *O. c. cozumelae* en tres tiempos, pre-huracán, post-huracán y 2011.

Figura 2. Representación gráfica sobre la estimación del tamaño de la población más probable para las poblaciones de *O. c. cozumelae*.

Figura 3. Representación gráfica del aporte genético de las poblaciones pre-huracán a las poblaciones post-huracán de *O. c. cozumelae*.

Figura 4. Representación gráfica de la estimación del tamaño de la población más probable para las poblaciones de *R. spectabilis*.

Cuadros

Cuadro 1. Coeficientes de fijación (F_{IS}) de Weir y Crockerham para cada locus de las poblaciones pre-huracán, post-huracán y 2011 de *O. c. cozumelae*.

Cuadro 2. Valores promedio de diversidad genética de las poblaciones pre-huracán, post-huracán y 2011 de *O. c. cozumelae*.

Cuadro 3. Diferenciación alélica y genotípica de las poblaciones de *O. c. cozumelae* entre las poblaciones pre-huracán, post-huracán y 2011.

Cuadro 4. Porcentaje de genotipos homocigos por locus para cada población de *O. c. cozumelae*.

Cuadro 5. Porcentaje de parentesco para las poblaciones pre-huracán, post-huracán y 2011 de *O. c. cozumelae*.

Cuadro 6. Valores de probabilidad de exceso de heterocigosis para las poblaciones pre-huracán, post-huracán y 2011 de *O. c. cozumelae*.

Cuadro 7. Cálculo del tamaño de la población más probable para la estimación de cuellos de botella en las poblaciones de *O. c. cozumelae*.

Cuadro 8. Porcentaje de aporte genético de las poblaciones pre-huracán (por localidad de muestreo) a las poblaciones post-huracán de *O. c. cozumelae*.

Cuadro 9. Coeficiente de fijación F_{IS} de Weir y Cockerham para cada locus de las poblaciones pre-huracán y post-huracán de *R. spectabilis*.

Cuadro 10. Valores de probabilidad y desviación estandar obtenidos de la prueba de desequilibrio de ligamiento para todas las combinaciones de loci posible de la población post-huracán de *R. spectabilis*

Cuadro 11. Valores de diversidad genética de *R. spectabilis* para la población post-huracán.

Cuadro 12. Valores de probabilidad de exceso de heterocigosis para las poblaciones de *R. spectabilis*.

Cuadro 13. Cálculo del tamaño de la población probable para la estimación de cuellos de botella en las poblaciones de *R. spectabilis*.

Cuadro 14. Composición alélica de la población post-huracán, en relación a los genotipos observados en las poblaciones pre-huracán de *R. spectabilis*.

RESUMEN

La diversidad biológica única que presentan las islas oceánicas enfrenta serias amenazas, no sólo por el aislamiento en el que se encuentran las poblaciones, sino por las perturbaciones, naturales y antrópicas, a las que se ven sujetas. En Isla Cozumel se conocen al menos 31 taxa de animales endémicos, muchos de ellos considerados amenazados o en peligro de extinción. En particular los roedores de la isla han experimentado reducciones drásticas de tamaño poblacional en los últimos años, sobre todo después de los huracanes Emily y Wilma que impactaron la isla en el año 2005.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la estructura y variabilidad genética de *Oryzomys couesi cozumelae* y *Reithrodontomys spectabilis*, dos taxa endémicos de Cozumel, y evaluar el impacto a nivel genético de los huracanes sobre sus poblaciones.

En el Capítulo 1 se presenta una breve introducción, haciendo hincapié en los antecedentes de Isla Cozumel y de la información de los roedores con la que se contaba.

El capítulo 2 se trata de una nota técnica sobre la caracterización que se realizó de los 10 loci microsatélites de *R. spectabilis*, publicada en *Conservation Genetics Resources* en Enero de 2013.

La diversidad y estructura genética de ambos roedores se describe en el Capítulo 3. Para *O. c. cozumelae* utilicé nueve loci microsatélites fluorescentes y obtuve los genotipos de 90 individuos por análisis de fragmentos de los productos amplificados. Para *R. spectabilis* utilicé 10 loci microsatélites fluorescentes, genotipificados de la misma manera en 90 individuos. Se observó una alta diversidad genética y alélica para las dos especies (H_o , H_e , $H_{NEI} > 0.7$; $n_a > 10$); aunque *R. spectabilis* presentó una clara estructura con al menos cuatro subgrupos a lo largo de la isla ($F_{ST \text{ locales}} = 0.0377 - 0.124$) y un efecto de aislamiento por distancia; mientras que, *O. c. cozumelae* se comportó como una única población a lo largo de toda la isla, con un elevado intercambio de individuos entre sitios, pues sólo el 8.24% de los individuos fueron asignados correctamente al localidad de muestreo. Es posible que la historia de vida de cada especie esté relacionada con las características genéticas observadas, es decir, mientras que la especificidad de hábitat que presenta *R. spectabilis* y patrones de conducta como fobia lunar pudieran estar limitando el flujo génico y con ello favoreciendo su estructuración, la capacidad de dispersión y los hábitos generalistas de *O. c. cozumelae* parecen estar manteniendo su diversidad genética y diluyendo cualquier proceso de diferenciación.

La marcada disminución en el éxito de captura fue el efecto más directo que se observó en las poblaciones de roedores después del paso de los huracanes por la isla en el 2005. En el Capítulo 4 se presentan los efectos a nivel genético de dicho disturbio. Para ello se contaba con datos de individuos capturados meses después de los huracanes y se realizaron muestreos durante el 2011, con el fin de dar seguimiento a los cambios que pudieran haberse generado. La vulnerabilidad de *R. spectabilis* se hizo evidente, pues se detectó un cuello de botella con una reducción de al menos 20% en el tamaño de la población, con probables extinciones locales (pues sólo fue posible obtener muestras de la población localizada al norte de la isla) y la pérdida de alelos, algunos de ellos exclusivos. Desafortunadamente para el 2011, sólo fue posible la captura de un único individuo, que fuera de cualquier análisis genético, pone en evidencia el peligro crítico en el que se encuentra esta especie. Por su parte, *O. c. cozumelae* parece hacerle frente a los estragos del huracán de una manera más activa: tanto en campo como a nivel genético, se observó un claro desplazamiento del centro de la isla hacia la periferia, movimiento que además podría estar asociado al cambio significativo en la distribución de las frecuencias alélicas que se observó, sin afectar la elevada variación genética que presentaba antes de los huracanes. En cuanto al tamaño de la población, aun cuando se registró un decremento en el tamaño censal, no fue posible detectar alguna huella de la ocurrencia de un cuello de botella, e incluso la población parece

recuperarse al retomar la distribución de las frecuencias alélicas pre-huracán. Es importante mencionar que otros disturbios como la introducción de especies y la perturbación del hábitat pudieron exacerbar o estar en sinergia con los efectos generados por los huracanes.

Los resultados presentados tienen un alto valor de conservación, no solo por las diferencias encontradas entre especies y por la evidencia de efectos genéticos asociados a una reducción en el tamaño de la población, sino también porque manifiestan la capacidad de los organismos para responder a perturbaciones que alteran el hábitat como son los huracanes. El mayor problema que enfrentan las poblaciones en la actualidad es el ritmo acelerado al que avanzan las perturbaciones humanas, que pueden conducir a su extinción antes de lograr su recuperación. Por ello, la necesidad urgente de incorporar planes para la protección del hábitat en Isla Cozumel.

ABSTRACT

The unique biological diversity of oceanic islands faces serious threats, not only because of the isolation at which their populations are subjected, but also due to both natural and anthropogenic disturbances. Cozumel Island has at least 31 endemic animal taxa, many of which are considered threatened or endangered. Rodents, in particular, have experienced drastic population size reductions during the recent years, especially after 2005 when hurricanes Emily and Wilma consecutively hit the island.

The objectives of this study were to determine the structure and genetic variability of *Oryzomys couesi cozumelae* and *Reithrodontomys spectabilis*, two rodent taxa endemic of Cozumel, and to evaluate the impact of the hurricanes at genetic level.

Chapter 1 contains a brief introduction, focused on the history of Cozumel Island and in some information about its rodents.

In Chapter 2 we present a technical note describing the 10 microsatellites used for the genotyping of *R. spectabilis*. This note was published in *Conservation Genetics Resources* in January 2013.

Genetic diversity and population structure of both rodents are described in Chapter 3. Nine fluorescent microsatellite loci were used to genotype 90 individuals of *O. c. cozumelae*. For *R. spectabilis* 10 fluorescent microsatellite loci were used to genotype 90 individuals using the same methodology. A high genetic and allelic diversity was observed for both species (H_o , H_e , $H_{NEI} > 0.7$, $n > 10$), although *R. spectabilis* presented a clear genetic structure, composed by at least four subgroups along the island (local $F_{ST} = 0.0377 - 0.124$) and exhibiting isolation by distance. On the other hand, *O. c. cozumelae* apparently has a single panmictic population throughout the island. In fact, this species likely maintains a high rate of individuals exchange between sites, with only 8.24% of individuals correctly assigned to their original sampling site. It is possible that the life history of each species is related to the genetic characteristics observed: while habitat specificity and behavior patterns as lunar phobia of *R. spectabilis* could be limiting its gene flow and promoting population structure, the dispersal ability and generalist habits of *O. c. cozumelae* seem to be maintaining its genetic diversity and diluting any differentiation process.

A sharp decline in capture success was the most direct effect observed in the rodent populations after the 2005 hurricanes. The genetic effects of these disturbances are presented in Chapter 4. In order to track population changes, sampling was conducted twice: a few months after the hurricanes and in 2011. *R. spectabilis* vulnerability was evident: we detected a bottleneck, with a reduction of at least 20% in the population size, presumable local extinctions (it was only possible to obtain samples in one population at the north of the island) and loss of alleles, some of them private. In 2011 the situation was even worse as it was only possible to capture a single individual, which highlights the critical endangered status of this species. On the other hand, *O. c. cozumelae* seems to cope with hurricane ravages in a more active way. We observed a clear migration of populations from the center of the island to its periphery, which translated in a significant change in the distribution of allele frequencies. Such a change, however, did not affect the levels of genetic variation that were observed before the hurricanes. On the other hand, we detected a decrease in the census population, which was apparently not strong enough to produce a genetic bottleneck. Indeed, the population seems to be recovering and retaking the distribution of allele frequencies found before the hurricanes. It is noteworthy that other disturbances, such as introduced species and habitat loss, may exacerbate or be in synergy with the effects generated by hurricanes.

Altogether, the results of this study have a high conservation value, not only for the highlighted differences observed between species and the genetic effects associated with population size reductions, but also because they demonstrate the ability of rodents to respond to disturbances that strongly alter their habitat, such as hurricanes. Other than the genetic effects shown herein, the main problems that both species face nowadays are of anthropological origin and can lead them both to extinction before they recover completely from the effects of the hurricanes of 2005. Hence, the establishment of plans for habitat protection in Cozumel Island is urgently needed.

CAPÍTULO 1

Antecedentes

INTRODUCCIÓN

La variedad de paisajes, de ecosistemas y de especies que se distribuyen en el territorio nacional, así como su diversidad cultural, han colocado a México como uno de los países biológica y culturalmente más ricos del mundo. De hecho, México ocupa el quinto lugar mundial de mayor diversidad biológica, por lo que enfrenta un enorme reto en la conservación de esta biodiversidad (CONABIO, 2006).

La variabilidad o diversidad genética, en sentido amplio, es el componente más básico de la biodiversidad y se define como las variaciones heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población y entre las poblaciones de una especie, y generalmente se describe con base en polimorfismos, heterocigosidad promedio y diversidad alélica (Frankham et al., 2010). El resto de la biodiversidad se deriva de los procesos evolutivos que operan sobre esas variaciones. De ahí que su conocimiento y comprensión sea de vital importancia, tanto para áreas dedicadas a la conservación y el avance de la genética evolutiva, como para su aplicación en beneficio de los seres humanos (Piñero et al., 2008). Altos niveles de variabilidad son vistos como ‘saludables’, ya que confieren la habilidad para responder a amenazas como enfermedades, parásitos y depredadores, así como a cambios en el ambiente. Por el contrario, bajos niveles de variación se consideran como limitantes en la habilidad de las especies para responder a esas amenazas, tanto a corto como a largo plazo (Frankham, 1996; Amos y Harwood, 1998; Booy et al., 2000).

Entre las vertientes en las que este conocimiento puede ser utilizado están los problemas relacionados con la conservación de especies amenazadas o en peligro de extinción. Entre éstas, las especies insulares requieren especial atención ya que son más propensas a la extinción que las poblaciones continentales, debido a factores como baja migración, elevada endogamia (que genera pérdida de variación genética), adaptaciones locales, menor capacidad de dispersión, perturbación del hábitat e introducción de especies, entre otros (Frankham, 1997; 1998; White y Searle, 2007). A lo anterior se suman catástrofes naturales como los huracanes, eventos que generan cambios drásticos en el ecosistema y que afectan las poblaciones naturales exacerbando los problemas que de por sí enfrentan las especies amenazadas (Lugo, 2008). Por lo tanto, el monitoreo del estado genético de las poblaciones de estas especies constituye una pieza indispensable para asegurar su permanencia a largo plazo, mediante su correcta clasificación en la lista de especies con prioridad de conservación, la delimitación de unidades de manejo y la implementación de propuestas para su conservación (Vázquez-Domínguez y Vega, 2006).

El presente trabajo representa un aporte fundamental al conocimiento de los roedores de la Isla Cozumel, especies que actualmente enfrentan serias amenazas naturales y antrópicas, y que al igual que el resto de las especies vegetales y animales que habitan la isla, requieren acciones urgentes que favorezcan su conservación. Los objetivos principales fueron describir las características genéticas de los roedores *Oryzomys couesi cozumelae* y *Reithrodontomys spectabilis* y evaluar los impactos genético-poblacionales que tuvieron los huracanes Emily y Wilma sobre sus poblaciones.

1. Islas y poblaciones insulares

Las islas son definidas como fragmentos de tierra rodeados completamente por agua, y según su origen se subdividen en: islas oceánicas (aquellas que nunca han estado conectadas con el continente); fragmentos continentales (que fueron separadas del continente por movimientos de las placas tectónicas); islas localizadas en la plataforma continental (las cuales están o han estado conectadas al continente); e islas dentro de cuerpos de agua como lagos o grandes ríos (Whittaker y Fernández-Palacios, 2007). La biota de estas islas está constituida normalmente por especies que comparten con zonas continentales y otras que se han establecido, adaptado y evolucionado separadas del continente, lo que conforma una biota altamente diversa y, en ocasiones, única en el mundo, por lo que son de importancia crítica para la biodiversidad global (Lara-Lara et al., 2008).

Las poblaciones insulares tienen varias características que las distinguen de aquellas localizadas en el continente. En primer lugar son entidades con límites geográficos bien definidos, en las que ocurren los procesos fundamentales de cualquier sistema ecológico (Vitousek et al., 1989). A su vez, las características de poblaciones insulares dependen en gran medida de la naturaleza e historia de la isla en que habitan (Williamson, 1981). Por ejemplo, las poblaciones insulares de roedores presentan, en general, densidades poblacionales más altas y más estables (aunque son menos abundantes), mayor sobrevivencia y masa corporal, reducida agresividad y capacidad de dispersión, así como bajo rendimiento reproductivo y poca estructuración por edades en relación a sus homólogas continentales (Gliwicz, 1980; Alder, 1996; Whittaker y Fernández-Palacios, 2007). Dichas características, producto en gran medida del aislamiento, permiten probar teorías sobre procesos ecológicos y evolutivos (colonización, tasas de extinción, relaciones inter e intraespecíficas, adaptación a los ambientes insulares, etc.).

Además, las islas oceánicas presentan altos niveles de endemismo asociados a la marcada diferenciación genética de las poblaciones, resultado de su establecimiento a partir de un reducido número de migrantes (efecto fundador; Grant, 1998); siendo las poblaciones insulares mucho más propensas a la extinción que las poblaciones continentales (Frankham, 1997, 1998). De hecho, la mayoría de las extinciones de mamíferos, aves y reptiles ocurridas desde 1600 han sido especies insulares (Frankham, 1997). Las razones por las que estas poblaciones son altamente susceptibles a la extinción son muy diversas. Se ha propuesto que la extinción en las

islas se debe a factores estocásticos como el reducido tamaño poblacional, las bajas tasas de migración, la perturbación del hábitat, la introducción de especies exóticas, la reducida habilidad competitiva y la alta susceptibilidad a enfermedades (Vázquez-Domínguez et al., 2004; Lara-Lara et al., 2008). Desde el punto de vista de su capacidad de permanencia a largo plazo, se han descrito tres causas principales que llevan a estas poblaciones a ser poco eficientes: problemas para defenderse de los depredadores, problemas para conseguir alimento (generalistas vs especialistas) y problemas para encontrar pareja; estas pueden agudizarse por las perturbaciones humanas y las catástrofes naturales. Por lo tanto, los organismos isleños generalmente responden a variables como la estacionalidad, el microhábitat, la fase lunar y la temperatura, así como a condiciones bióticas que incluyen la depredación, la competencia y la disponibilidad de alimento (Kelt et al., 2004).

Sumado a los factores ecológicos, se han descrito una variedad de factores genéticos que ponen en riesgo a las poblaciones insulares: la pérdida de variación genética, la depresión por endogamia, la acumulación de mutaciones deletéreas y las adaptaciones genéticas a los ambientes insulares (Frankham, 1997). La pérdida de variación genética está determinada en primer lugar por un efecto fundador (ya que la población inicial proviene de un pequeño número de individuos), el cual se puede ver agravado por procesos como la deriva génica y la endogamia, comunes en toda población pequeña y aislada (Frankham 1997, 1998, 2010; Vega et al., 2007). La deriva génica es considerada la principal causa de pérdida de variación genética a largo plazo, mientras que la endogamia es considerada el principal factor que pone en riesgo a las poblaciones en el corto plazo (Booy et al., 2000; Solano et al., 2009). Estos factores, junto con cuellos de botella genéticos, producto de una reducción abrupta del tamaño poblacional, incrementan la probabilidad de extinción gracias a la fijación de alelos deletéreos y a la reducción del potencial adaptativo (Lande, 1994; Vázquez-Domínguez et al., 1999). Sin embargo, estos efectos pueden variar de acuerdo al tamaño de la isla, ya que las islas de mayor tamaño pueden sostener poblaciones más grandes, atenuando la acción de estos factores (Kilpatrick, 1981; Hinten et al., 2003). Igualmente, la historia de vida de cada especie también juega un papel importante, ya que en términos de cómo responden al ambiente y a los cambios ambientales que enfrenten las probabilidades de extinción pueden ser mayores o menores.

Una gran número de estudios ha evidenciado que la mayoría de las poblaciones insulares (el 82%) presentan niveles más bajos de diversidad alélica que sus contrapartes continentales, mientras que, dentro de las especies insulares, los organismos endémicos muestran proporcionalmente niveles más bajos de variación genética que aquellos no endémicos (Frankham, 1997; Eldridge et al., 1999; Spielman et al., 2004; White y Searle, 2007; Duffie et al., 2009; Echenique-Díaz et al., 2009; Solano et al., 2009); además de que se han observado altos niveles de endogamia en poblaciones insulares (Frankham, 1998; Eldridge et al., 1999). Sin embargo, algunos estudios han encontrado mayor variación genética en poblaciones insulares, en especial cuando se trata de especies con alta capacidad de dispersión, que han efectuado varios procesos de

colonización e inmigración, o que habitan en islas de gran tamaño (Ryman et al., 1980; Bonhomme et al., 1989; Vega et al., 2007).

En particular para México, las islas son ricas en especies endémicas y mantienen una mayor diversidad taxonómica que la parte continental (Ceballos et al., 1998). Sin embargo, varias especies y subespecies de mamíferos endémicas de islas se han extinguido en las últimas décadas y muchas otras están actualmente consideradas como amenazadas o en alguna otra categoría de riesgo (Cuarón et al., 2004; Vázquez-Domínguez et al., 2004), por lo que resulta fundamental realizar estudios que generen información genética sobre estos organismos (Vázquez-Domínguez y Vega, 2006).

2. Isla Cozumel, Quintana Roo

Cozumel es la isla más grande del Caribe mexicano con una extensión aproximada de 478 km². Se localiza a 17.5 km de la costa noreste de la península de Yucatán (20°16'18.2"- 20°35'32.8" N; 86°43'23.3"- 87°01'31.1" W) y está separada del continente por el Canal de Cozumel, que tiene una profundidad aproximada de 400 m. Es una isla oceánica de origen coralino; tiene una altitud máxima cercana a los 10 msnm y no presenta ríos superficiales, pero posee corrientes subterráneas de agua dulce y salobre, así como humedales, aguadas y cenotes. El clima es cálido húmedo con lluvias intensas en verano, una temperatura media anual de 25.5 °C y una precipitación media anual de 1505 mm (Cuarón et al., 2009). No se conoce con certeza el momento de su formación, aunque se sabe con seguridad que la historia biológica de la península de Yucatán comenzó, o al menos se restableció, hace 65 millones de años (Vázquez-Domínguez y Arita, 2010).

La vegetación de Cozumel se encuentra entre las más desarrolladas de las islas de la península de Yucatán (Flores, 1992). En general existe un gradiente de vegetación bien definido que inicia a partir de la franja costera este, con vegetación de dunas costeras, seguida por tasistal (islotte que se encuentra en marismas y cuya vegetación predominante es el tasiste), manglar, selva baja caducifolia y que culmina con selva mediana subcaducifolia en la porción central de la isla. Ésta se extiende hasta la costa oeste donde también persisten manchones de manglar (Tellez, 1989; Romero-Nájera, 2004). Hay variaciones sobre este patrón general, existiendo diferentes gradientes en la parte norte, sur, occidental y diversas secciones de la costa oriental (CONANP, 2007).

Cozumel es un importante centro de endemismos, de hecho es la isla mexicana con mayor número de animales endémicos (especies y subespecies) con al menos 31 taxa (Walton, 2004; Cuarón et al., 2009), muchos de los cuales se encuentran amenazados o en peligro crítico de extinción (SEMARNAT, 2010; IUCN, 2010), y de los cuales se han realizado ya diversos estudios sobre aspectos ecológicos y genéticos relevantes para su conservación (ver, por ejemplo, Engstrom et al., 1989; Macouset y Escalante-Pliego, 2000; Gutiérrez-Granados, 2003; Fortes-Corona, 2004; Vega et al., 2007; Fuentes-Montemayor et al., 2009; García, 2010). Las principales

amenazas para las especies endémicas de la isla son las especies introducidas (como *Boa constrictor*, perros y gatos ferales, ratas y ratones domésticos) y la fragmentación del hábitat por la expansión de caminos y construcciones (Cuarón et al., 2009; Vázquez-Domínguez et al., 2012). Hasta el año 2000, se había estimado que aproximadamente el 90% de la isla estaba cubierta por vegetación natural, siendo una de las regiones mejor conservadas del estado de Quintana Roo. Desafortunadamente, el crecimiento de las poblaciones humanas han acelerado la fragmentación, la alteración y la pérdida de hábitats (Walton, 2004; Cuarón et al., 2009). Actualmente existen tres áreas naturales protegidas: el Parque Nacional Arrecifes de Cozumel (11 988 ha), el Refugio Estatal de Flora y Fauna Laguna Colombia (1114 ha) y el Área de Protección de Flora y Fauna Isla de Cozumel (37,829 ha) (Figura 1). Sin embargo, aun cuando existen iniciativas para crear nuevas áreas, la mayor parte de las zonas de importancia para la conservación permanecen sin protección (CONANP, 2007).

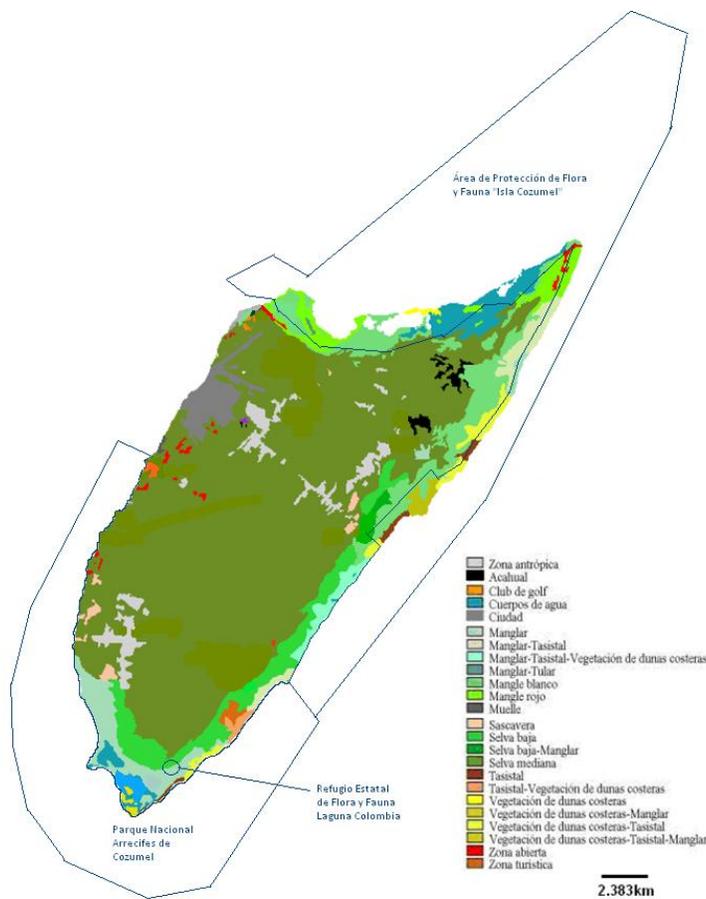


Fig. 1. Mapa de cobertura vegetal de Isla Cozumel modificado de Romero-Nájera (2004). Se señalan además los polígonos de las áreas naturales protegidas que existen actualmente.

Los disturbios naturales que afectan continuamente la biota de la isla tienen un efecto sinérgico con las perturbaciones antrópicas, aumentando el riesgo al que están expuestas las poblaciones (García-Aguilar, 2010).

Entre los principales disturbios naturales que afectan a Cozumel están los huracanes. Se ha estimado que durante el siglo XX, al menos un huracán de magnitud importante ha pasado por la isla cada década. Los más recientes son Gilberto (1988; categoría 5, según la escala Saffir-Simpson), Roxana (1995; categoría 3) y Emily y Wilma (2005; categorías 4 y 5, respectivamente).

3. Los roedores de Isla Cozumel, Quintana Roo

De los animales endémicos que alberga la Isla Cozumel, tres taxa son roedores, *Oryzomys couesi cozumelae*, *Reithrodontomys spectabilis* y *Peromyscus leucopus cozumelae*. Éste último era el roedor más común en la isla a mediados de 1980 (Engstrom et al., 1989); sin embargo, aún con esfuerzos de muestreo intensivo y extensivo no se ha vuelto a encontrar desde 2001, por lo que se presume que está extinto. Es probable que su desaparición esté relacionada a la depredación por especies introducidas como perros y gatos ferales y, especialmente, *Boa constrictor* (Gutiérrez-Granados, 2003; González-Baca, 2006). Las otras dos especies se encuentran amenazadas según la normatividad mexicana e internacional (SEMARNAT, 2010; IUCN, 2010).

Oryzomys couesi cozumelae



Fig. 2. Fotografía de *Oryzomys couesi cozumelae*

El género *Oryzomys* (Familia *Muridae*, Subfamilia *Sigmodontinae*; Musser y Carleton, 1993) es uno de los más diversificados dentro de la familia *Muridae* (Vinicius et al., 2004). Son abundantes en hábitats húmedos y están ampliamente distribuidos tanto en Centroamérica como en México. *Oryzomys couesi*, conocida como rata arrocera de pantano, es una buena dispersora que puede cruzar amplias extensiones de aguas abiertas (Cook et al., 2001). Es común en marismas y zonas inundables, incluyendo deslaves flotantes en aguas profundas, y menos común en matorrales espinosos, bosques y en los límites de éstos. En ocasiones puede invadir campos de arroz y azúcar. Se ha documentado que si se le molesta, puede sumergirse en el agua y nadar, deteniéndose para descansar a una distancia prudente (Reid, 1997). Se distribuye desde el sur de Texas hasta el noreste de Colombia.

En la República Mexicana se distribuye desde Tamaulipas hasta Yucatán por el Golfo de México, y desde Sonora hasta Chiapas por el Pacífico, excluyendo la región centro-norte del altiplano.

En Isla Cozumel se reconoce la subespecie *O. c. cozumelae* (Hall, 1981, Figura 1), que difiere

significativamente de *O. couesi* de la Península de Yucatán dado que tiene un tamaño más grande. Su cráneo es ligeramente mayor y menos arqueado en las órbitas, tiene dientes más pesados y nasales más largos, y el color es ligeramente más oscuro (Sánchez-Cordero, 2003). *O. c. cozumelae* es nocturna, con hábitos terrestres y semiacuáticos, y está clasificada según la normatividad mexicana como amenazada (Loxterman et al., 1998, SEMARNAT, 2010). Es común encontrarla en ambientes inundables como manglares, con enredaderas, hojas de palma, matorrales y hierbas, a lo largo de los bordes de campos abiertos y cerca de las zonas cultivadas. Es omnívoro generalista y se alimenta de semillas, frutos, insectos y partes suculentas de hierbas y arbustos (López y Medellín, 2005). Probablemente se reproduce durante todo el año, dando a luz de 5 a 8 crías, con ciclos de vida corto, y que a su vez son capaces de reproducirse luego de siete semanas (López y Medellín, 2005). Tiene una densidad poblacional de 14.5-16.5 individuos/ha, pero con variaciones estacionales significativas a lo largo del año (Fortes-Corona, 2004). También presenta efectos de borde asociados con una distribución espacial de carácter social (Fuentes-Montemayor et al., 2009).

Contrario a lo que se espera para la mayoría de las especies insulares (Frankham, 1998), *O. c. cozumelae* presenta altos niveles de diversidad genética y alélica ($H_o = 0.624$; $n_a = 10.8$), con una leve estructura genética y un posible aislamiento por distancia; teniendo además, un incremento de alelos raros que podría deberse a una expansión poblacional; además se ha observado que la reducción estacional en el tamaño poblacional no ha sido lo suficientemente drástica para que produzcan cuellos de botella o endogamia detectables (Vega et al., 2007).

Después del paso de dos huracanes consecutivos en 2005 por la isla, Emily y Wilma, se esperaba que las poblaciones de este roedor presentaran pérdida de diversidad genética (resultado de un cuello de botella) y mayor estructuración, en comparación con los valores observados previamente. Sin embargo, en un estudio con poblaciones de los dos años siguientes (2006-2007), se observó que, aun cuando la población perdió la estructura previamente detectada, no hubo diferencias significativas en la diversidad genética y alélica, mostrando sólo una tendencia a disminuir (García-Aguilar, 2010). Por otro lado, fue claro que los huracanes sí tuvieron un efecto directo en las características demográficas de la especie, ocasionando una disminución del 66% en el tamaño poblacional y una redistribución espacial de los organismos a lo largo de toda la isla (García-Aguilar, 2010).

Reithrodontomys spectabilis

Los roedores del género *Reithrodontomys* (Familia *Cricetidae*, Subfamilia *Cricetinae*; Jones, 1982) se agrupan en 21 especies divididas en dos subgéneros (*Reithrodontomys* y *Aporodon*) y cuatro grupos de especies. Estos son ratones relativamente pequeños, con cola larga y presentan un surco longitudinal en el centro de los dientes incisivos superiores (Carleton, 1980). Los miembros del subgénero *Reithrodontomys* difieren de las especies asignadas al subgénero *Aporodon* (consideradas como más derivadas que las primeras) por características

externas, como la morfología de los dientes molares, de la musculatura zigomasetérica, el número de vértebras caudales y algunos rasgos del epitelio gástrico discoglandular (Howell, 1914; Hooper, 1952; Carleton, 1980). Además, algunas especies muestran altos niveles de divergencia genética (Arellano et al., 2005). Se distribuyen desde el sur de Canadá hasta Colombia y Ecuador (Eisenberg, 1989). En México se encuentra un número considerable de las especies (62% del total; 13 de 21 taxa), distribuidas principalmente en El Eje Neovolcánico Transversal, la Sierra Madre del Sur, la Sierra de Oaxaca y la Sierra Madre de Chiapas (Sánchez, 1993). Las especies menos especializadas morfológicamente y con números diploides variables de 38 hasta 51 cromosomas pertenecen al subgénero *Reithrodontomys* y se concentran en el norte y centro de la distribución del género, mientras que las especies más especializadas morfológicamente y con números diploides de 50 y 52 cromosomas son del subgénero *Aporodon* y están distribuidas del centro de la distribución hacia la parte sur de la misma (Sánchez, 1993).

R. spectabilis (Jones y Lawlor, 1965, Figura 2), endémico de Isla Cozumel, es un roedor ligeramente más grande que su contraparte continental (*R. gracilis*); la cola es larga en relación a la cabeza y el cuerpo (hasta 148% en adultos) y tiene algo de pelo. Su pelaje es color ocre en la parte dorsal y blanco-grisáceo en la parte ventral. Es nocturno, semiarborícola y prefiere zonas de bosque denso y con presencia de enredaderas (Jones, 1982) y tiene una estructuración social asociada a efectos de borde (Fuentes-Montemayor et al., 2009). Es extremadamente escaso –presenta una densidad poblacional aproximada de 3.3 individuos/ha–, además de que se ha observado una pérdida del 80% de sus poblaciones en los últimos 10 años. Está ausente en amplias áreas de la isla (Gutiérrez Granados, 2003; Fortes-Corona, 2004). Sus poblaciones muestran una marcada fluctuación temporal, lo



Fig. 3. Fotografía de *Reithrodontomys spectabilis*

cual lo hace altamente vulnerable. La especie ha sido catalogada en Peligro Crítico por la Lista Roja de IUCN (IUCN, 2010) y como Amenazado por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010).

Similar a *O. c. cozumelae*, parece tener una función ecológica importante en la regeneración de la selva de Cozumel, ya que existe una relación positiva entre su abundancia y la riqueza de especies de plántulas (Gutiérrez Granados, 2003). Pero, a diferencia de *O. c. cozumelae*, es un ratón mucho más pequeño, no presenta dimorfismo sexual y, como comportamiento anti-depredatorio, no tiene actividad durante las noches con luna llena (Fortes-Corona, 2004).

No existen estudios previos sobre su estructura y diversidad genética. De hecho, sólo se sabe, según un

análisis filogenético reciente, que *R. spectabilis* y *R. gracilis* están cercanamente relacionadas, donde al parecer *R. spectabilis* representa una forma derivada relativamente reciente de *R. gracilis*. *R. spectabilis* presenta además una novedad morfológica: tamaño corporal grande, probablemente debido a un efecto de aislamiento (*Regla de islas*: Foster, 1964; Arellano et al., 2005).

4. Justificación del presente trabajo

El orden Rodentia es el que alberga el mayor número de especies entre los mamíferos de México y del mundo. Una gran cantidad de éstos son de distribución amplia y se encuentran en una extensa gama de tipos de vegetación, hecho que hace aún más relevante su importancia ecológica (Piñero et al., 2008). Por ejemplo, en las selvas tropicales, los roedores juegan un papel clave en diversas interacciones ecológicas como la dispersión y depredación de semillas y la herbivoría (Janzen, 1981), las cuales afectan la supervivencia y el establecimiento de semillas y plántulas (Gutiérrez-Granados, 2003; Zhang y Zhang, 2008). En consecuencia, tienen un efecto indirecto sobre la estructura de la vegetación y el funcionamiento de los ecosistemas (Sánchez-Rojas et al., 2004; Zhang y Zhang, 2008).

Particularmente para los roedores mexicanos se han hecho estudios enfocados a resolver preguntas sobre taxonomía, ecología de poblaciones y comunidades y patrones de diversidad. Con especies insulares, los estudios genéticos han brindado varias respuestas a cuestiones ecológicas y evolutivas sobre mamíferos pequeños: *Peromyscus* en las islas del Mar de Cortés (Hafner et al., 2001), *Peromyscus guardia* de la isla Estanque y en el archipiélago Ángel de la Guarda (Mellink et al., 2002; Vázquez-Domínguez et al., 2004), *Chaetodipus baileyi fornicatus* de la isla Montserrat (Álvarez-Castañeda y Córtes-Calva, 2002), varios roedores en el Golfo de California (Álvarez-Castañeda y Ortega-Rubio, 2003) y trabajos previos con *O. c. cozumelae* (Gutiérrez-Granados, 2003; Vega et al., 2007; Fuentes-Montemayor et al., 2009; García, 2010) y *R. spectabilis* (Fuentes-Montemayor et al., 2009). Aunque estos estudios constituyen un avance significativo en el conocimiento de los roedores isleños, todavía falta mucho por estudiar.

Debido a la crítica situación de riesgo que ya he descrito para las especies insulares y a la falta de información genética para los roedores del Caribe con alto riesgo de extinción (como *O. c. cozumelae* y *R. spectabilis*) es crucial que se sigan desarrollando trabajos de genética de poblaciones con especies de este tipo. La información genética es esencial para conocer su estado actual, su respuesta a perturbaciones naturales y antropogénicas, así como para determinar las potenciales consecuencias evolutivas. Con dicha información será posible contribuir al establecimiento de medidas de protección para asegurar su permanencia a largo plazo, lo que a su vez tendrá repercusiones sobre el ecosistema que habitan. El objetivo general del presente trabajo fue determinar la variabilidad y estructura genética de los roedores endémicos de la Isla Cozumel, así como evaluar el impacto de los huracanes Emily y Wilma (2005) a nivel genético sobre las poblaciones de los roedores en la isla.

CAPÍTULO 2

Microsatélites: caracterización de diez nuevos loci microsatélites para un roedor endémico en peligro de extinción, *R. spectabilis*

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, los avances tecnológicos han hecho posible el empleo de técnicas moleculares en estudios de ecología y conservación. Las tecnologías genéticas se emplean para determinar en detalle el estado de varias especies amenazadas o en peligro de extinción, aportando conocimientos importantes que han afectado de manera crítica las decisiones de manejo y han producido beneficios tangibles para las especies estudiadas (Wan et al., 2004; Oliviera et al., 2006).

Los marcadores moleculares que se utilizan actualmente en estudios de genética (secuencias de ADN mitocondrial, SNP's y microsatélites) permiten estimar diferentes parámetros de interés ecológico, como los niveles de diversidad genética, las tasas de migración, el tamaño efectivo de la población y la presencia de cuellos de botella. También, ayudan a determinar relaciones filogenéticas entre especies y poblaciones, así como el posible origen de las mismas. Permiten establecer los efectos del paisaje, reconstruir la historia evolutiva, evaluar el parentesco de los individuos, y ayudan a identificar las poblaciones y especies prioritarias para la conservación (Smith y Wayne, 1996; Avise 2000; Vázquez-Domínguez et al., 2001; Selkoe y Toonen, 2006).

Los microsatélites son uno de los marcadores más ampliamente utilizados para el análisis de poblaciones de plantas y animales, tanto en vida silvestre como en cautiverio. Éstos, también conocidos como secuencias repetidas simples (*simple sequence repeats: SSR*), repeticiones en tándem de número variable (*variable number tandem repeats; VNTR*) y repeticiones cortas en tándem (*short tandem repeats: STR*), están ampliamente distribuidos tanto en el ADN nuclear como los genomas citoplasmáticos –como el del cloroplasto o la mitocondria–, en eucariontes y, en menor medida, en procariontes. Son regiones del ADN formadas por secuencias de uno a seis nucleótidos repetidos en tándem (Neff y Gross, 2001; Oliviera et al., 2006; Selkoe y Toonen, 2006; Rentarúa, 2007) cuya longitud varía entre cinco y 40 repeticiones, aunque es posible encontrar cadenas más largas. Las repeticiones di-, tri- y tetra-nucleotídicas son las más comúnmente utilizadas para estudios de ecología molecular (Selkoe y Toonen, 2006). Los microsatélites se clasifican de acuerdo al tipo de secuencia repetida como perfectos (la secuencia repetida no es interrumpida por ninguna base a lo largo del motivo repetido), imperfectos, interrumpidos (en los que hay una pequeña secuencia que no encaja con el motivo repetido) y compuestos (donde la secuencia contiene dos secuencias repetidas adyacentes) (Oliviera et al., 2006).

Se ha estimado que a lo largo de todo el genoma pueden encontrarse entre 10^4 y 10^5 microsatélites, generalmente en regiones no codificantes del ADN (es decir, regiones que no son traducidas). También se han encontrado en regiones codificantes, en cuyo caso se cree que podrían desempeñar roles funcionales tales como: facilitar la recombinación, potenciar la expresión de los genes y/o contribuir a la estructura de los cromosomas a través del empaquetado y condensación del ADN (Neff y Gross, 2001; Oliviera et al, 2006). Las regiones nucleares son heredadas de forma mendeliana y son codominantes, por lo que pueden revelar heterocigotos (con dos alelos diferentes en un locus) y homocigotos (con dos copias del mismo alelo en un locus) en cada individuo (Wan et al., 2004). Tienen un alto grado de polimorfismo (con valores superiores al 90%), como consecuencia de la alta tasa de mutación que presentan (Wan et al., 2004; Rentarúa, 2007), la cual se ha estimado que varía entre 10^{-2} y 10^{-6} mutaciones por locus por generación (en promedio 10^{-4}). Sin embargo, estas no sólo difieren entre tipos de repeticiones (di-, tri- o tetra-nucleótido), las bases que las componen y el tipo de microsatélite (perfecto, compuesto o interrumpido), sino también entre grupos taxonómicos (Balloux y Lugon-Moulin, 2002; Rentarúa, 2007).

Entre los mecanismos que se han propuesto para explicar el alto polimorfismo en microsatélites están (Li et al., 2002; Oliviera et al., 2006): los errores durante la replicación del ADN (*slippage missparing*), generando inserciones o deleciones de repeticiones en la secuencia; y la recombinación desigual (*unequal crossing-over*), que puede causar cambios en la longitud del microsatélite y modificaciones en las regiones flanqueantes.

El modelo de mutación más aceptado en estos marcadores respecto a la generación de nuevas variantes es el de paso a paso (*Stepwise Mutation Model*; Kimura y Otha, 1978), el cual propone que cada mutación crea un nuevo alelo, ya sea mediante la adición o deleción de una repetición. Esto implica que la magnitud de las diferencias en el tamaño de los distintos alelos será proporcional al grado de relación entre ellos. En otras palabras, alelos con diferencias de tamaño grandes están más lejanamente relacionados que aquellos con tamaños similares (Balloux y Lugon-Moulin, 2002), Slatkin (1995) propuso una medida de diferenciación genética (R_{ST}) basada en este modelo, útil para el análisis de datos generados por este tipo de marcadores (Oliviera et al., 2006). La presencia de homoplasia, es decir, cuando dos alelos son idénticos por estado pero no por descendencia, puede alterar los resultados de estudios que involucren altas tasas de mutación y grandes tamaños poblacionales, aunque, en general, representa un sesgo mínimo al utilizar este modelo (SMM) en estudios sobre genética de poblaciones (Oliviera et al., 2006; Selkoe y Toonen, 2006).

En particular, los microsatélites son útiles en estudios genéticos sobre procesos que actúan a una escala de tiempo ecológica y a una escala espacial fina (Selkoe y Toonen, 2006): variación genética intra e interespecífica, análisis de linajes, para identificar unidades de conservación y tamaños efectivos poblacionales; para investigar los procesos genéticos que se llevan a cabo en las poblaciones, como patrones de flujo génico, estructuración y deriva génica, así como relaciones de parentesco, hibridación y asignación de individuos a su población más

probable (Loxterman et al., 1998; Vázquez-Domínguez et al., 2001; Mossman y Waser, 2001; Avise, 2000; Vázquez-Domínguez, 2002; Wan et al., 2004; Oliviera et al., 2006; Rentaría, 2007).

Otras ventajas de su uso sobre otros marcadores moleculares son que, 1) la obtención de ADN puede hacerse por métodos no invasivos y puede utilizarse poco ADN o de baja calidad; 2) las técnicas utilizadas son relativamente baratas y sencillas y 3) los datos obtenidos son fáciles de interpretar, repetitivos y automatizables (Selkoe y Toonen, 2006; Rentaría, 2007).

Algunas desventajas que puede presentar el uso de estos marcadores son que al ser especie-específicos, el aislamiento y diseño de *oligonucleótidos cebadores* (*primers*, en inglés) es costoso y lento. No obstante, esto se ha reducido sustancialmente en los últimos años, además de que en ciertos casos es posible utilizar *primers* desarrollados para otras especies del mismo género e incluso familia (i.e., Galan et al., 2004; Loiseau et al., 2007; Küpper et al., 2008). Otra desventaja es que los mecanismos de mutación de estos marcadores todavía no se conocen del todo, por lo que se dificulta su interpretación en estudios de tipo evolutivo. Asimismo, la diversidad alélica observada puede “ocultarse” por fenómenos como homoplasia y presencia de alelos nulos (aunque se ha reportado muy baja subestimación de diferenciación genética: de 1 a 2%) y algunos microsatélites pueden estar bajo selección. Sin embargo, muchas de las desventajas pueden evitarse si la selección de loci durante el proceso de aislamiento se realiza cuidadosamente y mediante el control de las condiciones de trabajo (Wan et al., 2004; Selkoe y Toonen, 2006; Rentaría, 2007).

Para responder las preguntas del presente trabajo se utilizaron estos marcadores moleculares. En el caso de *O. c. cozumelae* se amplificaron nueve loci desarrollados para la amplificación de microsatélites de *O. palustris* (Wang et al., 2000), los cuales fueron probados y estandarizados previamente por Vega et al. (2007) y García-Aguilar (2010). Sin embargo, no se habían desarrollado marcadores de microsatélites para ninguna especie del género *Reithrodontomys*. En las páginas siguientes se presenta una nota técnica sobre la caracterización de 10 loci de microsatélites para *R. spectabilis*, estandarizados y utilizados en este trabajo (Vázquez-Domínguez y Espindola, 2013).

Characterization of ten new microsatellite loci from the endangered endemic rodent, *Reithrodontomys spectabilis*

Ella Vázquez-Domínguez · Sayra Espindola

Received: 5 September 2012 / Accepted: 28 September 2012 / Published online: 9 October 2012
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2012

Abstract *Reithrodontomys spectabilis* is an endemic rodent inhabiting Cozumel island in the Mexican Caribbean. This species is categorized as Threatened by Mexican law and as Critically Endangered by the IUCN. We report 10 polymorphic microsatellite loci, which were tested in 30 individuals trapped on the island. Results show a number of alleles ranging from 3 to 14, an observed heterozygosity of 0.200–0.967 and expected heterozygosities from 0.396 to 0.899. Two loci showed deviation from Hardy–Weinberg equilibrium. None of the loci showed linkage disequilibrium. These new microsatellite loci for *R. spectabilis* are vital to investigate different aspects of genetic diversity and help conservation of this endemic, threatened species.

Keywords Cozumel harvest mouse · Conservation genetics · Mexico · Island

Cozumel Island is the largest island in the Mexican Caribbean, with an area of ca. 486 km², located in the Caribbean Sea (20°20'N–87°00'W; 20°0'N–86°50'W) and separated from the oriental coast of the Yucatán peninsula by 17.5 km. It harbors a unique biological diversity, including at least 31 endemic animal taxa (Cuarón 2009), one of which is the Cozumel Harvest mouse, *Reithrodontomys spectabilis*

(Jones and Lawlor, 1965). This rodent is semi-terrestrial, a good tree climber and a lunar phobic. It is extremely scarce on the island as a result of a significant decrease of its population numbers in the last decade, with an estimated population of 3.3 ind/ha (Fortes-Corona 2004; Fuentes-Montemayor et al. 2009). *R. spectabilis* is currently classified as Threatened by Mexican law (Semarnat 2010) and as Critically Endangered in the global IUCN red list (Cuarón et al. 2008).

At present, there are no microsatellite markers developed for this or any species in the genus *Reithrodontomys*. Here we present 10 polymorphic microsatellites loci developed for *R. spectabilis* together with population genetics data. We live-trapped rodents throughout the island during several years, as part of an ongoing study on the ecology, evolution, genetics and conservation of the Cozumel biota (e.g., Vega et al. 2007; Martínez-Morales et al. 2009; Vázquez-Domínguez et al. 2012).

For each trapped individual we took a tissue sample that was stored in 97 % ethanol for later use. We performed DNA extraction of 30 individuals with the commercial kit Quick Gene DNA Tissue Kit (Fujifilms Life Science), following the manufacturer's instructions. DNA quantity and quality were assessed with 1 % agarose gels stained with 0.5 µg/ml ethidium bromide and visualized with UV light. Microsatellite loci isolation was performed by the commercial company Genetic Marker Services (GMS, United Kingdom), which did the library production, unlabeled primer set design and polymorphism testing.

We performed DNA amplification by polymerase chain reaction (PCR) with 10 fluorescent dye-labeled microsatellite primers (Table 1). Total PCR volume was 5 µl, containing approximately 25 ng template DNA, 0.5 units of Taq DNA polymerase, 1.5–2.0 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTPs, 0.5–0.9 µM of each primer and 10× reaction PCR buffer (200 mM Tris–HCl pH 8.4, 500 mM KCl). PCR

E. Vázquez-Domínguez (✉) · S. Espindola
Departamento de Ecología de la Biodiversidad, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Ap. Postal 70-275, 04510 Mexico DF, Mexico
e-mail: evazquez@ecologia.unam.mx

S. Espindola
Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Torre II de Humanidades, Ciudad Universitaria, 04510 Mexico DF, Mexico

Table 1 Population genetics statistics of 10 microsatellite loci for *R. spectabilis* from Cozumel Island

Locus	Primer sequence 5'–3'	Repeat motif	Size (bp)	T _a (°C)	na	H _o	H _e
mexR12	F:TTCATCCAAGGCTGCTCTCT R:GTGAAGACAGCATGGGACAC	(TG) ₂₂	233–271	54	14	0.800	0.891
mexR13	F:GTTTAATCTCCATGCTCTGG R:ACATGATGGAAAAGAATAC	(TG) ₂₁	211–245	54	14	0.967	0.899
mexR16	F:ACCCAAAAGCAACAATAAGA R:ATGTGCGGCCACACTCAGG	(TG) ₁₇	172–196	Td	11	0.933	0.887
mexR19	F:GTTTCAATCAGCACCCACCT R:GACACACATGAATGCTCTCG	(GT) ₂₂	276–330	Td	12	0.767	0.898
mexR20	F:CTGAGCACACAGATGATTCCT R:CAGTTACAGAAACAAATAGGT AGAC	(TG) ₂₅	245–283	Td	12	0.833	0.879
mexR22	F:TGACAGAACTTCCTGGAGA R:GCTTTTGTGGGCTGTCACTT	(AC) ₂₄	274–296	Td	11	0.900	0.866
mexR23	F:GAAAGGATGCAGAGGAGAGG R:GATTCAATGCCCTCTTCCAA	(TG) ₈	119–129	Td	3	0.367	0.396
mexR32	F:TCTAGCAAGTTATCCTTTGACC R:CTCCCTTCCATCCAGAGCTT	(CA) ₂₀	170–190	Td	7	0.200	0.701
mexR33	F:GGGGCTATGCTGCAAAGTAA R:GTACCCACACACATGTCAC	(TG) ₂₅	170–190	Td	8	0.900	0.797
mexR34	F:CACCCTCAGGGAAGGATAGT R:GGGTGAGTGTGCATGCATGT	(GT) ₂₃	202–274	Td	9	0.733	0.771

Table shows repeat motif, allele size in base pairs, T_a annealing temperature, na number of observed alleles, H_o observed heterozygosity and H_e expected heterozygosity. Td indicates touch down (see text for temperatures)

conditions were as follows (all primers except mexR12 and mexR13): initial 2 min denaturation at 95 °C, 6 cycles consisting of 95 °C denaturing for 1 min, annealing for 1 min at 64 °C (decreasing 1 °C per cycle) and extension at 72 °C for 1 min, followed by 10 cycles consisting of 95 °C denaturing for 1 min, annealing for 1 min at 58 °C and extension at 72 °C for 1 min, 10 cycles of 95 °C denaturing for 1 min, annealing for 1 min at 57 °C and extension at 72 °C for 1 min, with a final extension at 72 °C for 5 min. For mexR12 and mexR13 PCR conditions were: initial 2 min denaturation at 95 °C, followed by 30 cycles consisting of 95 °C denaturing for 1 min, annealing for 1 min at 54 °C and extension at 72 °C for 1 min, with a final extension at 72 °C for 5 min, all with a PTC-100 (M.J. Research) thermocycler. After amplification, microsatellite products were multiplexed and run on an ABI Prism3730xl and 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems), with ROX-500 as internal size standard, and allele size determined with the software GeneMarker v.1.97 (SoftGenetics). Negative controls were included in all runs and multiple samples were sized at least twice to assure reproducibility and correct readings.

We evaluated the presence of null alleles with the program MICRO-CHECKER v.2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004) and also examined possible departures from Hardy–Weiberg equilibrium (HWE) with an exact test and linkage disequilibrium (LD) by a log-likelihood ratio statistic (G-test) using GENEPOP v.4.0

(Raymond and Rousset 1995). We assessed genetic variability by estimating the observed (*n_o*) number of alleles and observed (*H_o*) and expected heterozygosity (*H_e*) using Arlequin v.3.1 (Excoffier et al. 2005).

The 10 polymorphic loci showed number of alleles ranging from 3 to 14, their observed and expected heterozygosities from 0.200 to 0.967 and 0.396 to 0.899, respectively. We found evidence for scoring errors due to stuttering and null alleles for the loci mexR19 and mexR32. These same loci showed deviation from HWE (*P* < 0.005) after Bonferroni correction for multiple comparisons (Rice 1989). No significant LD was detected (*P* > 0.05).

These new microsatellite loci for *R. spectabilis* are of great value, particularly because of the high conservation risk faced by this species. They are vital for the ongoing research in Cozumel, allowing us to investigate different aspects of genetic diversity and help conservation efforts focusing on population structure, connectivity and the effects of introduced species and of recent habitat fragmentation (S. Espindola and E. Vázquez-Domínguez, unpublished data).

Acknowledgments We thank the following people for help during field-work: R. Vega, C. González-Baca, E. Fuentes-Montemayor, A.D. Cuarón and other members of the Cozumel Project. E. Vázquez-Domínguez acknowledges financial support from the Instituto de Ecología, UNAM, from Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (grants IX238004 and IN219707) and from Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

(CONACyT grant 101861). S. Espindola acknowledges the scholarship and financial support provided by CONACyT (No. 245447). Scientific collector permit to E.V.D.: Semarnat-FAUT-0168.

References

- Cuarón AD (2009) Cozumel. In: Gillespie R, Clague DA (eds) Encyclopedia of islands. University of California Press, Berkeley, pp 203–206
- Cuarón AD, Vázquez-Domínguez E, de Grammont PC (2008) *Reithrodontomys spectabilis*. In: IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.1. <http://www.iucnredlist.org>. Downloaded on 30 Aug 2012
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform Online* 1:47–50
- Fortes-Corona I (2004) Ecología de roedores endémicos de la Isla Cozumel, Quintana Roo. Dissertation, Universidad de Guadalajara, Mexico, México
- Fuentes-Montemayor E, Cuarón AD, Vázquez-Domínguez E, Benítez-Malvido J, Valenzuela D, Andresen E (2009) Living on the edge: roads and edge effects on small mammal populations. *J Anim Ecol* 78:857–865
- Martínez-Morales MA, Cruz PC, Cuarón AD (2009) Predicted population trends for Cozumel Curassows (*Crax rubra griscomi*): empirical evidence and predictive models in the face of climate change. *J Field Ornithol* 80:317–327
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered* 86:248–249
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43:223–225
- Semarnat (2010) Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, 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, diciembre 1–19
- van Oosterhout C, Hutchinson WF, Willis DPM, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping error in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4:535–538
- Vázquez-Domínguez E, Suárez-Atilano M, Booth W, González-Baca C, Cuarón AD (2012) Genetic evidence of a recent successful colonization of introduced species on islands: *Boa constrictor imperator* on Cozumel Island. *Biol Invasions* 14:2101–2116
- Vega R, Vázquez-Domínguez E, Mejía-Puente A, Cuarón AD (2007) Unexpected high levels of genetic variability and the population structure of an island endemic rodent (*Oryzomys couesi cozumelae*). *Biol Conserv* 137:210–222

CAPÍTULO 3

Diversidad genética y estructura poblacional de los roedores en Isla Cozumel

INTRODUCCIÓN

La genética de poblaciones es la rama de la genética que se encarga del estudio del origen, los niveles y la distribución de la variación genética presente dentro y entre las poblaciones, así como de los mecanismos que causan cambios en esta variación en tiempo y espacio (Conner y Hartl, 2004; Templeton, 2006).

En el presente capítulo se describe la diversidad y estructura genética de *O. c. cozumelae* y *R. spectabilis*, los dos roedores endémicos de Isla Cozumel. La información obtenida representa el primer trabajo genético comparativo entre especies insulares en México. Los resultados sugieren que es posible que las características ecológicas de cada roedor (formas de vida, requerimientos de hábitat, comportamiento) estén determinando sus características genéticas. Por lo tanto, es importante considerar la riqueza genética de sus poblaciones y su estructuración dentro de los planes de acción para su conservación a largo plazo.

1. La variación genética dentro y entre las poblaciones

Los niveles de variabilidad genética de una especie son explicados en términos de un balance entre procesos de ganancia y pérdida. La diversidad puede ganarse a través de mutación o flujo génico entre poblaciones, mientras que la pérdida puede ocurrir mediante deriva génica y consanguinidad. La selección natural tiene dos vertientes, ya que puede producir pérdida al eliminar todo aquello que se desvíe del genotipo óptimo, o por el contrario conservarla si favorece a los individuos heterocigotos (Futuyma, 2009). El tamaño de la población, la distribución espacial, la endogamia, la habilidad de dispersión y la organización social, así como la heterogeneidad ambiental y la fragmentación del hábitat, son factores que también afectan la diversidad genética y generan estructura entre las poblaciones y especies (Amos y Harwood, 1998; Booy et al., 2000; Conner y Hartl, 2004).

La estructura genética es otro factor relevante, ya que la mayoría de las especies se dividen en 'subpoblaciones' más pequeñas. Esta subdivisión influye directamente en la probabilidad de que dos individuos escogidos al azar se apareen, lo que a su vez provoca que las frecuencias alélicas entre subpoblaciones sean diferentes y por tanto las poblaciones se diferencien entre sí (Hartl y Clark, 2006; Hamilton, 2009). Cuando una población presenta estructura genética, generalmente la diversidad genética dentro de las subpoblaciones se reduce, debido principalmente a que el flujo génico se ve limitado y a que los apareamientos ocurren predominantemente entre individuos de una misma subpoblación, aumentando el nivel de endogamia (Balloux y Lugo-Moulin, 2002).

En poblaciones de especies en riesgo, los niveles de diversidad y estructura genética se traducen en términos evolutivos y en su aplicación para su sobrevivencia ya que, a) a corto plazo, la endogamia y la deriva génica disminuyen la adecuación (*fitness*) de los individuos e incrementan el riesgo de extinción; b) a largo plazo, las poblaciones que pierden variación genética pierden potencial evolutivo –ya que la evolución no puede proceder sin variación genética– por lo que, en un mundo de rápidos cambios ambientales, cualquier población que no sea capaz de adaptarse a las condiciones cambiantes se extinguirá (a menos que presente suficiente plasticidad fenotípica como para sobrevivir a dichos cambios); c) un limitado flujo génico favorece la diferenciación y la pérdida de diversidad y d) cualquier disminución en el tamaño efectivo de la población reduce la variación genética y aumenta la endogamia, generando una reducción en el éxito reproductivo y con ello en la sobrevivencia de las especies (Frankham, 1996; Booy et al., 2000; Höglund, 2009; Frankham et al., 2010).

En las islas, la variación genética está fuertemente determinada por procesos como efecto fundador, tamaño efectivo de la población, inmigración, deriva génica y selección, factores que a su vez podrían estar relacionados con el alto riesgo de extinción que las poblaciones insulares enfrentan. En un estudio comparativo, utilizando 202 trabajos que incluían poblaciones insulares y continentales, se concluyó que el 82% de las poblaciones insulares presentan menor variación genética que su contraparte continental, y a su vez, que las especies endémicas presentan una mayor reducción que aquellas que no lo son (Frankham, 1997).

Cabe mencionar que es tal la relevancia de contar con información genética de poblaciones naturales que actualmente se generan incontables estudios de este tipo. En una búsqueda simple en buscadores como *ScienceDirect* o *Pubmed*, utilizando como palabras clave ‘*genetic diversity*’ y ‘*genetic structure*’ se obtienen más de 6 000 artículos publicados entre los años 2011 y 2012.

2. Parámetros de diversidad genética

Entre los parámetros utilizados para describir la diversidad genética de una especie están: la heterocigosidad observada (H_o), la heterocigosidad esperada (H_e), la heterocigosidad esperada no sesgada de Nei (H_{Nei}), el número observado de alelos (n_o) y el número efectivo de alelos (n_e).

La heterocigosidad es una de las medidas de diversidad genética a nivel poblacional más ampliamente utilizada, ya que en especies diploides, los individuos pueden ser caracterizados como homocigos o heterocigos para un locus dado. La heterocigosidad observada (H_o) puede calcularse como:

$$H_o = \frac{N_i}{N}$$

donde N_i es el número de heterocigos observados para un locus dado y N es el total de los individuos muestreados.

La heterocigosidad esperada (H_e : $2pq$ para un locus con dos alelos de frecuencias p y q) es aquella que se esperaría en una población en equilibrio Hardy-Weinberg (H-W) con las mismas frecuencias alélicas observadas en la población real. H_e puede ser calculada como:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^{\text{Num. de alelos}} p_i^2$$

donde p_i es la frecuencia del i -ésimo alelo para un determinado locus en una población. Esta medida es menos sensible al tamaño de muestra que la H_o .

Por su parte, Nei (1978) sugirió que cuando se trata de muestras pequeñas debe hacerse una pequeña corrección en la fórmula:

$$H_{Nei} = \frac{2N}{2N-1} \left(1 - \sum_{i=1}^{\text{Num. de alelos}} p_i^2 \right)$$

donde N es el tamaño de la muestra y p_i es la frecuencia del i -ésimo alelo para un determinado locus en una población (Hedrick, 2005; Frankham et al., 2010).

El número observado de alelos (n_o) se considera una medida complementaria, ya que es más sensible a la pérdida de diversidad genética en poblaciones pequeñas que la heterocigosidad y se encuentra altamente relacionado con el tamaño de la muestra, además de ser una medida importante del potencial evolutivo de las poblaciones (Allendorf, 1986). El número efectivo de alelos (n_e) es el número de alelos necesarios para proveer la misma heterocigosidad observada si todos los alelos fueran igualmente frecuentes. Se calcula como:

$$n_e = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

donde p_i es la frecuencia de cada alelo. Esta medida es menos sensible al tamaño de muestra y a la presencia de alelos raros (Hedrick, 2005).

3. Parámetros de estructura genética

Uno de los supuestos que debe asumirse para que las frecuencias genotípicas se mantengan en equilibrio de H-W es al apareamiento al azar entre los individuos (Hedrick, 2005). Sin embargo, esta uniformidad es improbable para la mayoría de las especies, ya que generalmente las poblaciones están subdivididas en unidades más pequeñas (ya sea por factores geográficos, ecológicos o de comportamiento). Así, la probabilidad de que dos individuos se apareen depende en gran medida de su ubicación dentro de la población. Esto conduce a lo que se conoce como estructura, o heterogeneidad a lo largo de la población. La cual depende de la probabilidad de que dos individuos escogidos al azar se apareen. El impacto de esta estructura sobre las frecuencias

genotípicas y alélicas también genera heterogeneidad –o estructura– genética, también conocida como diferenciación entre subpoblaciones (Hedrick, 2005; Hamilton, 2009).

El aislamiento por distancia y un limitado flujo génico son los principales factores que generan estructura genética en una población (Hedrick, 2005; Hamilton, 2009). De hecho, sin flujo génico suficiente para mantener los apareamientos aleatorios, la deriva génica, la selección, e incluso la ocurrencia de mutaciones, incrementarían la diferenciación de las subpoblaciones (Hedrick, 2005; Hamilton, 2009).

Una forma que se utiliza para cuantificar diferencias entre poblaciones es la distancia genética, una medida de diferenciación dada por las sustituciones alélicas por locus que han ocurrido desde la divergencia de dichas poblaciones. Una de las medidas más empleadas para marcadores acordes al modelo de mutación paso a paso como los microsatélites, es la distancia genética de Nei (D_{Nei}), que se define como:

$$D_{Nei} = -\ln(I_{Nei})$$

donde I_{Nei} es el índice de similitud genética de Nei, que se define como:

$$I_{Nei} = \sum_{i=1}^m \frac{(P_{ix}P_{iy})}{[(\sum_{i=1}^m P_{ix}^2)(\sum_{i=1}^m P_{iy}^2)]^{1/2}}$$

donde P_{ix} es la frecuencia del alelo i en la población (o especie) x y P_{iy} es el alelo i en la población (o especie) y ; y m es el número de alelos presentes en el locus. Cuando las frecuencias alélicas son similares entre las dos poblaciones ($P_{ix}=P_{iy}$) la similitud genética se aproxima a 1 y la distancia genética a cero y viceversa (Frankham et al., 2005).

El grado de endogamia puede asimismo ser usado como una medida de diferenciación entre las subpoblaciones o fragmentos. Sewall Wright (1951) propuso tres coeficientes para describir la distribución de la diversidad genética dentro y entre poblaciones, los estadísticos F (F_{ST} , F_{IS} y F_{IT}). El primero, F_{ST} o índice de fijación, es una medida de divergencia entre las frecuencias alélicas de las subpoblaciones. Se define como la probabilidad de que dos alelos tomados al azar en una población sean idénticos por descendencia; su valor siempre es positivo y mantiene una relación inversamente proporcional con el flujo génico entre poblaciones ($F_{ST} = 0$, no hay estructura; $F_{ST} = 1$, completamente diferentes). Existen otros estadísticos homólogos a F_{ST} como R_{ST} (que toma en cuenta el tamaño de los alelos), G_{ST} (equivalente a F_{ST} pero útil cuando se cuenta con alelos múltiples en un locus) y D_{EST} (más relacionado con las distancias genéticas entre poblaciones), útiles en el cálculo de la diferenciación entre subpoblaciones cuando se utilizan microsatélites como marcador molecular, sobre todo porque son parámetros que consideran las tasas de mutación y los altos niveles de polimorfismos que pueden obtenerse con estos marcadores (Whitlock, 2011). F_{IS} , o el coeficiente de endogamia, es definido como la probabilidad de que dos alelos en un individuo sean idénticos por descendencia y determina el exceso (valor negativo) o deficiencia (valor positivo) de heterocigosidad de los individuos en el interior de las

subpoblaciones. Finalmente, F_{IT} , o coeficiente de endogamia total de un individuo, mide la reducción de heterocigosis del individuo con respecto a la población en conjunto (Goudet, 1995).

Recientemente se ha propuesto que los patrones de estructura genética dentro y entre poblaciones deberían integrarse dentro de una evaluación más compleja, integrando datos ambientales y factores antropogénicos, sobre todo porque dichos factores pueden convertirse en barreras (naturales o no) que limiten el flujo genético y consecuentemente influyan en la diferenciación (estructura) genética (Manel et al., 2003; Radespiel et al., 2008).

En México se han incrementado los estudios de diversidad genética en un sin número de especies en los últimos años. Algunas recopilaciones indican que muchas de las especies mexicanas tienen una alta diversidad genética, cuando menos equiparable a la de otras partes del mundo (Piñero et al., 2008). Sin embargo, no es posible hacer una generalización al respecto, ya que los parámetros de genética de poblaciones dependen de la biología, la historia evolutiva y la práctica de manejo del organismo. Como ya se ha mencionado, las islas poseen una diversidad biológica excepcional, cuyas poblaciones poseen generalmente menor diversidad genética (Franham, 1997). En Isla Cozumel, la información genética acerca de los roedores es muy escasa: en 2007, Vega y colaboradores realizaron un estudio sobre la estructura y variación genética de *O. c. cozumelae* utilizando cinco marcadores microsatélites para evaluar los principales parámetros de diversidad y estructura genética (Equilibrio Hardy-Weinberg, Desequilibrio de Ligamiento, H_o , H_e , n_a , n_e , estadísticos F, ANOVA, N_e). Respecto a *R. spectabilis* sólo se sabe que presenta una distancia genética baja (1.27%) respecto a su contraparte continental *R. gracilis* (Arellano et al., 2005).

Este trabajo no sólo complementa la caracterización genética de los roedores que habitan la isla (información completamente nueva en el caso de *R. spectabilis*), sino que además por primera vez será posible comparar las diferencias que existen entre especies, explicadas en términos de sus requerimientos ecológicos. Es importante mencionar que, para el caso de *O. c. cozumelae* se incrementará el número de microsatélites utilizados previamente (Vega et al., 2007), lo que dará una mayor precisión y exactitud en los cálculos de los valores genético poblacionales.

HIPÓTESIS

Si la variación y estructura genética que presentan los roedores de Isla Cozumel reflejan las diferencias ecológicas entre especies, entonces *O. c. cozumelae* presentará altos niveles de diversidad genética y poca estructuración, mientras que *R. spectabilis*, una especie menos abundante y con requerimientos de hábitat más específicos, presentará menor variación genética, alta diferenciación genética y bajos valores de flujo génico, comparado con los valores observados para *O. c. cozumelae*.

OBJETIVOS

1. Determinar la estructura y variación genética de *R. spectabilis* y *O. c. cozumelae* en Isla Cozumel.
2. Evaluar si existen diferencias entre la estructura y variación genética de *R. spectabilis* y *O. c. cozumelae* y asociar las características genéticas con las características ecológicas de cada especie.

MATERIALES Y MÉTODO

1. Trabajo de campo y obtención de tejido

Desde el 2001 y hasta los primeros meses del 2005 se llevaron a cabo muestreos sistemáticos de roedores en Isla Cozumel para otros estudios ecológicos y genéticos. Los sitios estaban ubicados principalmente en la zona centro de la isla, en un área dividida en ejes para la captación y extracción de agua potable, a cargo de la Comisión de Agua Potable y Alcantarillado (CAPA); así como en otras zonas rurales y urbanas al norte, este, sur y noroeste de la isla (Gutiérrez-Granados, 2003; Fortes-Corona, 2004; Vega et al., 2007; Fuentes-Montemayor et al., 2009; García, 2010). Las capturas se realizaron por medio de trampas Sherman cebadas con una mezcla de avena, crema de cacahuete y vainilla. Según el acceso a la zona, las trampas fueron colocadas de tres formas distintas: 1) en gradillas de 4 líneas por 10 trampas separadas entre sí aproximadamente 10 m, 2) gradillas de 7 líneas por 7 trampas separadas entre sí aproximadamente 8.5 m, o bien, 3) transectos lineales con 25 trampas colocadas cada 12 m aproximadamente a lo largo del transecto. De los roedores capturados se obtuvieron muestras de falanges, oreja y/o cola, todas conservadas en etanol al 70%. Además, se tomaron los datos merísticos estándares (medidas de oreja, pata, cuerpo y cola), así como el peso, la edad y el sexo de cada individuo. Finalmente, todos los ejemplares fueron liberados en el mismo lugar de captura. En cada individuo capturado se revisaba la presencia de cortes previos para evitar dobles registros.

Las muestras de *O. c. cozumelae* fueron procesadas para los dos trabajos previos sobre su estructura y diversidad genética (Vega et al., 2007; García, 2010). Para el caso de *R. spectabilis* todas las muestras fueron conservadas en refrigeración hasta su uso en el presente trabajo.

2. Extracción de ADN

Vega y colaboradores (2007) realizaron la extracción de ADN de tejido (falange, oreja o cola) de *O. c. cozumelae* con el kit comercial AquaPure GENomic DNA (Biorad, California) siguiendo las instrucciones del proveedor. Para la extracción de ADN de tejido de *R. spectabilis* se utilizó el kit comercial QuickGene DNA tissue (FUJIFILM Life Sciences®), con algunas modificaciones del protocolo establecido por el proveedor para muestras pequeñas (Anexo 1).

La cantidad de ADN obtenido y su pureza (libre de proteínas y RNA) se determinaron empleando un biofotómetro BioPhotometer 6131 (Eppendorf®), que proporciona la concentración de ADN (ng/μl). Además, todas las muestras se observaron en geles de agarosa al 1%, teñidos con bromuro de etidio al 0.5 μg/ml y visualizados con luz UV (Anexo 2). De esta manera, se obtenía un estimado cualitativo de la concentración de ADN (utilizando como referencia el marcador de peso molecular de ADN Lambda (Invitrogen®) a 5, 10 y 25 ng/μl) y su integridad.

3. Microsatélites y estandarización de PCR

Para *O. c. cozumelae* se utilizaron nueve pares de *primers* fluorescentes para la amplificación de nueve loci microsatélites, los cuales fueron desarrollados originalmente para *O. palustris* (Wang et al., 2000), y transferidos y estandarizados previamente para *O. c. cozumelae* por Vega et. al (2007) y García (2010). Para *R. spectabilis* se emplearon 10 pares de *primers* especie-específicos fluorescentes para la amplificación de 10 loci microsatélites, que fueron desarrollados *de novo* por Genetic Marker Services (Brighton, England; Vázquez-Domínguez y Espindola, 2013).

Las condiciones estandarizadas para la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) para cada uno de los *primers* utilizados se detallan en el Anexo 3. La estandarización consistió básicamente en modificar la concentración de $MgCl_2$ y de los *primers*, el número de ciclos y la temperatura de hibridación durante la PCR. Se realizaron controles negativos durante la estandarización de cada par de oligonucleótidos para asegurar que no hubiera contaminación durante la amplificación y que las bandas obtenidas fueran propias del microsatélite. Además, se incluyeron controles positivos y negativos al estandarizar la técnica para asegurar que las condiciones de amplificación se mantuvieran entre experimentos. Los productos de PCR se observaron en geles de agarosa al 1.5%, teñidos con bromuro de etidio a 0.5 $\mu g/ml$, utilizando como referencia el marcador de peso molecular VC 100pb Plus DNA Ladder (Vivantis®), y visualizados bajo luz UV (Anexo 2).

4. Análisis de fragmentos y obtención de genotipos

Todos los productos de la PCR fueron analizados por locus y para las dos especies con el servicio de análisis de fragmentos de la Universidad de Illinois, EUA (UIUC, Core DNA Sequencing Facility), en un secuenciador capilar ABI Prism 3730xl Analyzer (Applied Biosystems®), con la escalera ROX 500 Size Standard (Applied Biosystems®) como marcador de peso molecular. El genotipo de cada locus se obtuvo con los programas GeneMapper V. 4.0 (Applied Biosystems®) y GeneMarker V 2.2 (SoftGenetics®), que permiten la visualización de los cromatogramas y la lectura del tamaño de cada alelo por medio de la comparación directa del tamaño de dichos alelos con la escalera interna. Cabe destacar que en los casos en los que no se obtenían amplificaciones adecuadas se modificaron las concentraciones de ADN de cada muestra durante la PCR.

5. Análisis de datos

Todos los análisis genéticos que se describen a continuación se realizaron por separado para cada especie y se utilizaron pruebas estadísticas descriptivas para comparar los resultados obtenidos entre ellas.

5.1. Presencia de tartamudeos y alelos nulos

Debido a que en los microsatélites puede haber mutaciones en las regiones flanqueantes, los *primers* pueden no unirse y no amplificar durante la PCR, generando que algunos heterocigotos puedan ser considerados como homocigotos (lo que se conoce como presencia de alelos nulos). Además, en ocasiones durante la PCR se obtienen fragmentos de un tamaño diferente del alelo real debido a tartamudeos de la polimerasa (llamados *stutter bands*), que pueden producir errores en la genotipificación. Para evitar interpretaciones erróneas de los datos obtenidos se evaluó la presencia de alelos nulos y tartamudeos con el programa MicroChecker 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004), con un intervalo de confianza del 95% y 1000 repeticiones, para cada locus por población y para la población en su conjunto.

5.2. Definición de subgrupos en la población

En genética de poblaciones, un paso crucial para diversos análisis es definir los grupos o subpoblaciones en las que puede estar dividida la población muestreada (Pritchard et al., 2000). En muchas ocasiones, esta subdivisión resulta subjetiva, basada en criterios arbitrarios del investigador o, típicamente, por los localidades de muestreo en la zona de estudio; lo que puede ocasionar errores graves en el manejo e interpretación de la información. Para evitar esto se hizo un análisis de agrupación de los individuos con el programa STRUCTURE V.2.3 (Pritchard et al., 2000; Hubisz et al., 2009), que permite detectar el número de poblaciones (K) usando datos genotípicos. Este programa utiliza métodos de agrupación permitiendo la asignación de individuos (por probabilidad) a alguna población, o conjuntamente a dos o más poblaciones si los genotipos indican la ocurrencia de mezcla. Además, permite incluir información previa sobre lugar de muestreo mejorando la inferencia de grupos. Para las dos especies se establecieron los siguientes parámetros: 50000 para la longitud de *burn-in*, 50000 para la longitud de la corrida, *Admixture model* como modelo ancestral y *Correlated allele frequencies model* como modelo de frecuencias alélicas. Se pusieron a prueba valores de K entre 1 y 8, con 20 repeticiones cada uno. Se graficó el $\text{LnP}(K)$ y se eligió el valor de K que presentó el número más pequeño de $\text{LnP}(K)$. Además se hizo la corrección de Evanno et al. (2005) para la obtención de ΔK . Dicha corrida fue utilizada para las estimaciones de porcentajes de asignación por *cluster* y por individuo.

También se realizó un análisis de asignación con el programa GeneClass 2.0 (Piry et al., 2004) debido a que 1) no se contaba con datos precisos referentes al sitio de captura de algunos de los individuos utilizados para este estudio y 2) algunos individuos tuvieron un porcentaje de asignación menor al 70% con el programa STRUCTURE. GeneClass analiza el genotipo de cada individuo para determinar a qué población es más probable que pertenezca según las frecuencias genotípicas que se presenten en las poblaciones de referencia, en este caso, las obtenidas mediante STRUCTURE. Los individuos se asignaron con un umbral de 0.05 y se ocuparon los criterios que el programa trae por defecto (Asignación por individuo, con un umbral del 0.05; criterios de computación por el método Rannala y Mountain; cálculo de probabilidad utilizando el algoritmo de Pakeau,

1000 individuos simulados y $\alpha = 0.01$). Finalmente los grupos obtenidos por STRUCTURE se utilizaron como ‘poblaciones’ para el resto de los análisis.

5.3. Diversidad genética

Equilibrio Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento (DL)

Una herramienta útil en el análisis de diversidad genética de las poblaciones es el Modelo de Hardy-Weinberg (H-W), un modelo teórico que establece que después de una generación en una población ideal (de tamaño infinito, con apareamientos al azar y en donde no ocurre mutación, migración ni selección), las frecuencias alélicas y genotípicas de un locus permanecen constantes o en equilibrio. Bajo dicho supuesto, los análisis permiten estimar la desviación de este equilibrio, es decir, qué tan semejantes o diferentes son las frecuencias reales de las teóricas. El desequilibrio de ligamiento consiste en la asociación no aleatoria entre alelos de diferentes pares de loci (Hedrick, 2000) y provee información sobre la historia evolutiva y demográfica de las poblaciones, así como de la ubicación espacial de los loci en los cromosomas (Excoffier y Slatkin, 1998).

La desviación de las frecuencias observadas con respecto a las esperadas en H-W y la presencia de desequilibrio de ligamiento entre marcadores se determinó con el programa GenePop 4.0.10 (Raymond y Rousset, 1995; Rousset, 2008). Las pruebas de probabilidad se llevaron a cabo mediante dos métodos: Cadenas de Markov para cada locus por población y Método de Fisher para todos los loci por población. En el análisis se obtuvo el coeficiente de endogamia F_{IS} de Weir y Crockerham (1984) para cada una de las poblaciones por locus, con la finalidad de obtener el exceso (valor negativo) o deficiencia (valor positivo) de heterocigotos, así como las frecuencias alélicas, los genotipos observados y las distribuciones alélicas y genotípicas. Para la ocurrencia del desequilibrio de ligamiento se analizaron todas las combinaciones posibles de pares de loci. En todos los análisis se utilizaron los parámetros: 1000 pasos de dememorización, 200 análisis en *batch* y 1000 iteraciones por *batch*.

Diversidad genética dentro y entre poblaciones

Se estimaron los siguientes parámetros de diversidad genética para cada población y para la población en conjunto con los programas GenePop 4.0.10 (Raymond y Rousset, 1995; Rousset, 2008) y GenAlEx v. 6 (Peakall y Smouse, 2006): número observado (n_o) y efectivo (n_e) de alelos, heterocigosidad observada (H_o), esperada (H_e) y de Nei (H_{NEI}). Asimismo, se calcularon las frecuencias alélicas por locus, por población y la presencia de alelos privados. Para evaluar la diferenciación alélica y genotípica entre poblaciones se realizaron dos pruebas con el programa GenePop: a) la prueba exacta de G (Goudet et al., 1996) para la diferenciación por poblaciones pareadas por locus y b) la prueba de Fisher (Raymond y Rousset, 1995) con todos los loci en su conjunto.

5.4. Estructura genética

Se estimaron los estadísticos F por locus (programa FSTAT 2.9.3; Goudet, 1995) y se evaluó la estructura y diferenciación genética dentro y entre poblaciones con el estimador F_{ST} (basado en el número de alelos

diferentes entre las poblaciones) y el de R_{ST} (basado en las varianzas de los tamaños de los alelos) (Michalakis y Excoffier, 1996), calculados con el programa Arlequin 3.5.1.3 (Excoffier et al., 2005). Es importante señalar que, aún cuando el índice R_{ST} se ha propuesto como el más adecuado para el análisis con microsatélites (Slatkin, 1995), también se ha sugerido que cuando el tamaño de muestra ($N < 50$) y el número de loci analizados (< 20) son pequeños, es mejor utilizar el estimador de F_{ST} ya con el de R_{ST} se pueden obtener datos erróneos (Gaggiotti et al., 1999). Además, para marcadores altamente variables, como los microsatélites, se han propuesto otros estadísticos, como G'_{ST} y D_{EST} , los cuales dependen de la tasa de mutación pero son insensibles a otros factores evolutivos que pudieran estar influenciando la cantidad y los patrones de variación genética (Hedrick, 2005; Whitlock, 2011). El parámetro G'_{ST} está relacionado con la cantidad de variación dentro de las sub-poblaciones y de la población en conjunto (Hedrick, 2005), mientras que D_{EST} indica la proporción de diversidad alélica que se encuentra entre las sub-poblaciones, por lo que aumenta conforme incrementa la divergencia entre éstas (Jost, 2008; Whitlock, 2011). Como ningún parámetro es excluyente, se obtuvieron todas estas medidas de diferenciación utilizando el programa DEMETics (Gerlach et al., 2010).

Se construyó un árbol filogenético por el método Neighbour-Joining usando diferentes medias de distancias genéticas y Bootstraps = 10 000 con el programa PopTree2 (Takezaki et al., 2010). Se eligió el árbol con los bootstraps más altos y con el mejor ajuste a los datos de diferenciación.

Con el fin de determinar la distribución de la variación genética, se realizó una evaluación de niveles jerárquicos por medio del Análisis de Varianza Molecular (AMOVA; Excoffier et al., 1992) empleando los parámetros F_{ST} y R_{ST} con 30000 permutaciones. Este análisis utiliza métodos permutacionales no paramétricos para calcular la distribución de la varianza genética entre los diferentes niveles jerárquicos de agrupación (entre individuos, entre poblaciones y entre grupos de poblaciones), mediante la partición de la varianza en componentes de covarianza dados por las diferencias entre poblaciones y entre los individuos de la población.

Para evaluar el aislamiento por distancia se utilizó una prueba de Mantel con el programa IBDWS (Jensen et al., 2005), utilizando como distancia genética los valores de F_{ST} obtenidos con FSTAT 2.9.3 (Goudet, 1995) y la distancia geográfica lineal entre localidades (en km) para cada una de las poblaciones, obtenidas mediante la herramienta *Measure* del programa Google Earth (2011).

Por su parte, se obtuvo un estimado de migrantes de primera generación entre poblaciones con GeneClass y además, con Arlequin 3.5.1.3, se estimó el número efectivo de migrantes (N_m) a partir de las diferencias en las frecuencias alélicas entre poblaciones (F_{ST} y R_{ST}) (Allendorf y Luikart, 2007), con el fin de obtener un estimado indirecto de dicho flujo. Con el programa BIMr V.1.0 (Faubet y Gaggiotti, 2008) se calcularon las de tasas de migración reciente entre localidades de muestreo. Este programa permite hacer inferencias de proporciones recientes de genes inmigrantes a través de aproximaciones Bayesianas. Para el análisis se utilizaron todos los parámetros que venían por defecto en el programa ($Burnin=10000$, Tamaño de la muestra=10000, *Thinning interval*= 50, 3 réplicas).

Para asociar la ubicación geográfica con la diferenciación genética se utilizó el programa GESTE V.2.0 (Foll y Gaggiotti, 2006), que permite estimar valores locales de F_{ST} basados en el localidad de muestreo. Este programa utiliza métodos bayesianos para evaluar el efecto que tienen los factores ambientales en la estructura genética de las poblaciones. El programa utiliza modelos lineales generalizados para relacionar las características genéticas, con los factores ambientales y su interacción. Para una primera estimación se realizó un ensayo utilizando como factor ambiental la distribución espacial de las poblaciones. Los datos genéticos incluyeron 9 loci microsátélites, y como factores se utilizaron las coordenadas geográficas (en grados decimales) de cada localidad de muestreo (Factor 1 = latitud, Factor 2 = longitud) y además se agregó la interacción entre factores, obteniendo cinco modelos probables (M):

1. M1=Constante (Modelo en donde los factores ambientales no tienen efecto sobre la diferenciación genética).
2. M2=Constante, Factor 1 (Modelo en donde la latitud tiene efecto sobre la diferenciación genética).
3. M3=Constante, Factor 2 (Modelo en donde la longitud tiene efecto sobre la diferenciación genética).
4. M4=Constante, Factor 1, Factor 2 (Modelo en donde los dos factores tienen efecto sobre la diferenciación genética).
5. M5=Constante, Factor 1 * Factor 2, Factor 1, Factor 2 (Modelo en donde la interacción de los factores tienen efecto sobre la diferenciación genética).

En el segundo ensayo se evaluó la influencia de la conectividad entre localidades de muestreo (medida a partir de distancias geográficas promedio) en el grado de diferenciación (F_{ST} local) obtenido. Para este caso se utilizó la conectividad como único factor, donde Factor 1= [Suma de distancias de una población respecto a las demás (km)/número de poblaciones], obteniendo dos modelos probables: M1=Constante (Modelo en donde la conectividad no tiene efecto sobre la diferenciación genética) y M2=Constante, Factor 1 (Modelo en donde la conectividad tiene efecto sobre la diferenciación genética).

Ambos análisis se realizaron con los valores que el programa trae por defecto y se repitieron tres veces para confirmar la consistencia de los resultados obtenidos.

5.5. Pruebas de parentesco y tamaño efectivo

Otras estimaciones que pueden hacerse a partir de datos genéticos son las relaciones genealógicas entre individuos, representadas como la probabilidad de que los genotipos de los individuos compartan cero, uno o dos alelos idénticos por descendencia (Blouin, 2003); así como el cálculo del tamaño efectivo de las poblaciones. Dichas estimaciones permiten caracterizar el comportamiento demográfico de las poblaciones. Así, se estimaron la relación de parentesco entre individuos con el programa ML-RELATE (Kalinowski et al., 2006). Este programa se basa en pruebas de máxima verosimilitud e incluye alelos nulos, por lo que no es necesario eliminar loci (Wagner et al., 2006), y además ofrece resultados sobre conectividad entre poblaciones

(identidad por descendencia de alelos) y de relación (clasificando a los individuos en una genealogía por categorías, padre-hijo, hermanos, medios hermanos, etc.).

El tamaño efectivo (N_e) se refiere a la porción de individuos en una población que puede reproducirse exitosamente, ya que estos son los que contribuyen a la generación siguiente en términos demográficos y genéticos (Hedrick, 2000). Este valor se determinó con los programas NeEstimator v. 1.3 (Peel et al., 2004; Ovenden et al., 2007) y LDNE v.1.31 (Waples, 2006) a partir de la medida del desequilibrio de ligamiento entre pares de loci en una población, suponiendo un sistema de apareamiento aleatorio.

Debido a que el tamaño de las muestras fue pequeño, se evaluó el valor de significancia mediante correcciones de Bonferroni secuencial para todos los análisis mencionados (Rice, 1989).

RESULTADOS

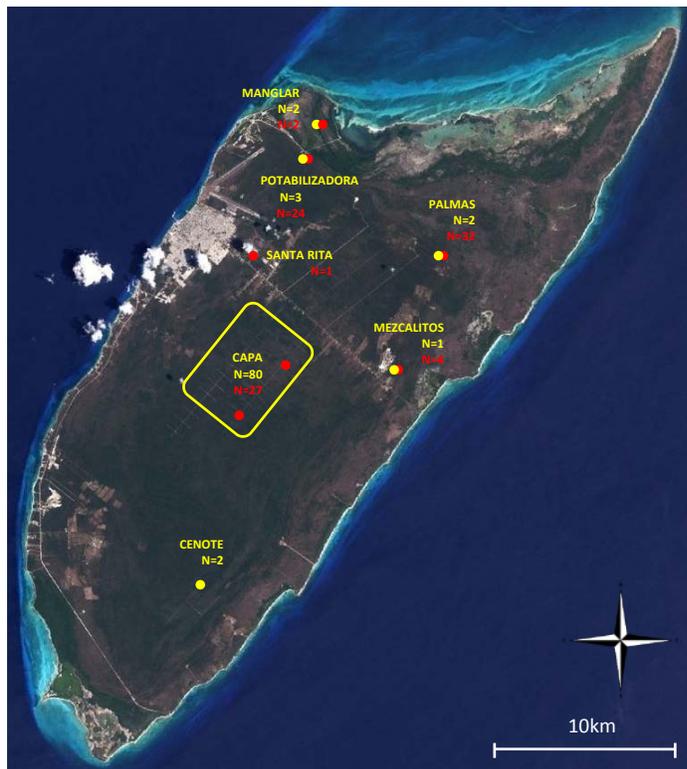


Fig. 1. Imagen de la Isla Cozumel, Q. Roo, con los puntos de muestreo establecidos y tamaño de muestra; en color amarillo se muestran los puntos con capturas de *O. c. cozumelae*, y en rojo de *R. spectabilis* (Mapa obtenido de Google Earth, 2012).

1. Muestreo y número de individuos

Luego de un esfuerzo de captura de aproximadamente 40,000 trampas-noche se obtuvo un éxito por debajo del 3%. Las trampas se colocaron en los ejes 4 y 5 de CAPA, al noroeste, noreste, este y sur de la isla (Fig. 1).

Para este trabajo se eligió aleatoriamente una submuestra de 90 individuos de *O. c. cozumelae*, de los 228 analizados por Vega y colaboradores (2007). Estos fueron genotipificados para nueve loci microsátelites. Para *R. spectabilis* se obtuvieron 90 individuos capturados durante los mismos muestreos en siete sitios distintos de la isla (Fig. 1).

2. Presencia de alelos nulos y tartamudeos

Sólo se encontró la presencia de alelos nulos y tartamudeos para el locus mexR32 de *R. spectabilis*. Al analizar la población en su conjunto se obtuvo que los loci mexR16 y mexR19 pudieran presentar alelos nulos; sin embargo, al hacer la corrección no presentan diferencias significativas, de tal manera que se incluyeron para todos los análisis.

3. Definición de subgrupos y asignación de individuos

Para *O. c. cozumelae* se obtuvo un único cluster ($\text{LnP}(K) = -2471.3$, $\Delta K = 0.60$), mientras que los individuos de *R. spectabilis* fueron distribuidos en cuatro grupos ($\text{LnP}(K) = -3334.6$, $\Delta K = 1.74$) por el programa STRUCTURE, con un porcentaje de asignación de entre 45.6 y 76.5% (probabilidad de pertenencia) y con el 60% de los individuos asignados a algún grupo (umbral=0.7) (Cuadros 1 y 2 y Fig. 2). El análisis con GENECLASS2 permitió ubicar en

algún grupo el 92% de estos individuos, mientras que el 8% restante se asignó según la población en donde habían sido capturados.

Cuadro 1. Porcentajes de pertenencia para cada localidad de muestreo de *R. spectabilis*, en relación a los cuatro grupos obtenidos con el programa STRUCTURE. Se resaltan en negritas el porcentaje más alto para cada localidad. (N=numero de muestras).

Dada la localidad	Clusters inferidos (% de asignación)				N
	1	2	3	4	
CAPA 4.4	76	2.8	8.4	12.8	16
CAPA 4.8	7.6	76.5	8.5	7.4	11
MANGLAR	9.7	12.1	16	62.1	2
MEZCALITOS	13	19.4	55.1	12.5	4
PALMAS	17	6	56.2	20.9	32
POTABILIZADORA	14.7	4.6	14.4	66.4	24
SANTA RITA	45.6	8	11.5	34.9	1

Cuadro 2. Porcentaje por localidad de muestreo de los individuos de *R. spectabilis* que fueron asignados a algún cluster con un porcentaje de probabilidad mayor a 70%

Población de origen	Porcentaje de individuos	Cluster asignado
CAPA 4.4	81.3%	1
CAPA 4.8	81.8%	2
MANGLAR	50.0%	4
MEZCALITOS	50.0%	3
PALMA	48.4%	3
POTABILIZADORA	56.0%	4
SANTA RITA	0.0%	-
TOTAL	60.0%	-

Cuadro 3. Asignación de individuos de *R. spectabilis* detectados como migrantes de primera generación a su población más probable.

Lugar de captura	Población probable
CAPA 4.4	Palma
CAPA 4.8	Mezcalitos
CAPA 4.8	Potabilizadora
Manglar	Palma
Manglar	Potabilizadora
Palma	Potabilizadora
Potabilizadora	Palma
Potabilizadora	CAPA 4.4
Santa Rita	CAPA 4.4

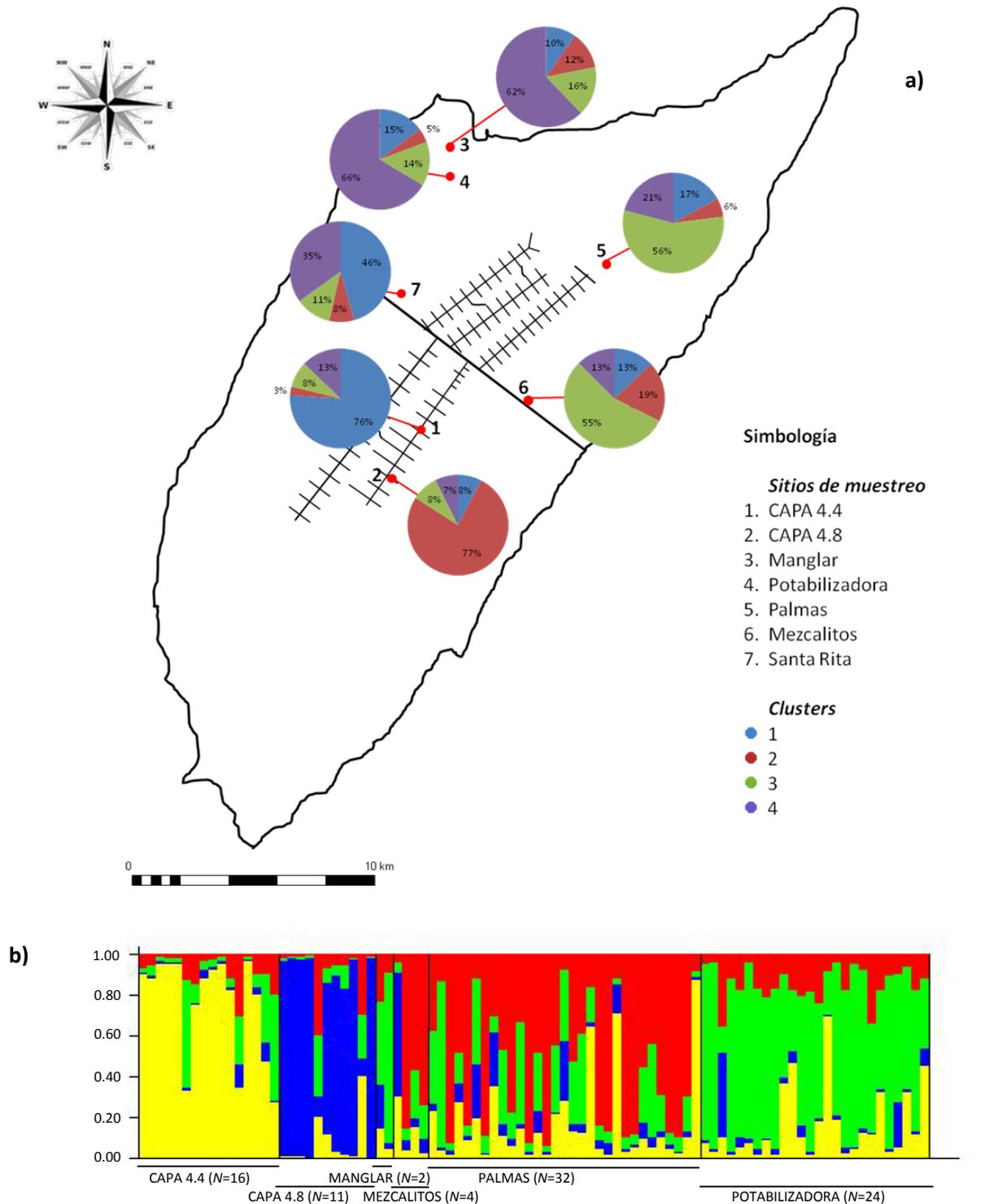


Fig 2. a) Representación gráfica del porcentaje de asignación por localidad de muestreo de R. spectabilis, en relación a los cuatro clusters obtenidos con el programa STRUCTURE. Los puntos en rojo señalan la ubicación del localidad de muestreo. Los colores azul, rojo, verde y morado de las gráficas de pastel, permiten visualizar cómo se agrupan las localidades de muestreo en los cuatro grupos inferidos según el mayor porcentaje de asignación. b) Gráfico obtenido de STRUCTURE en donde se observan los cuatro clusters (amarillo, azul, rojo y verde) y un alto contenido de mezcla entre localidades; en el eje "x" están señaladas las poblaciones por localidad de muestreo y el tamaño de muestra (N), el eje "y" representa el porcentaje de pertenencia a algún cluster por individuo.

Los resultados que se presentan a partir del siguiente apartado (exceptuando aquellos en donde se mencione explícitamente) estarán dados por los clusters o **grupos** inferidos por STRUCTURE: grupo 1 = CAPA 4.4 y Santa Rita, grupo 2 = CAPA 4.8, grupo 3 = Mezcalitos y Palmas, grupo 4 = Manglar y Potabilizadora. Además se presentan los resultados de la población en conjunto, es decir, tomando en cuenta a todos los individuos como una única población en toda la isla.

4. Equilibrio Hardy-Weinberg (H-W)

Para *R. spectabilis* los coeficientes de fijación (F_{IS}) según el método de Weir y Cockerham mostraron valores entre 0.2308 y -0.272; sólo el locus mexr19 mostró una deficiencia de heterocigotos significativa para el grupo 2 (Cuadro 4). El locus mexR32 mostró exceso de homocigotos, probablemente debido a la presencia de alelos nulos.

Cuadro 4. Coeficiente de fijación (F_{IS}) y valores de probabilidad (P) de Weir y Cockerham para cada locus por grupo y para la población en conjunto de *R. spectabilis* (* $p \leq 0.05$, con corrección de Bonferroni). Se señala en gris el locus que presentó alelos nulos.

LOCUS	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4		En conjunto	
	F_{IS}	p	F_{IS}	p	F_{IS}	p	F_{IS}	p	F_{IS}	p
mexr16	0.03	0.6365	-0.1364	0.3772	0.0754	0.1649	0.165	0.1824	0.0934	0.1438
mexr19	0.0028	0.9646	0.2308	0.0037*	0.0107	0.8317	-0.0323	0.8986	0.1264	0.0146
mexr20	0.0323	0.4374	0.0576	0.3353	-0.0548	0.0467	-0.0601	0.0698	0.0088	0.1696
mexr22	-0.0298	0.5603	-0.2717	0.3785	0.1653	0.0409	0.1228	0.0791	0.0492	0.043
mexr23	-0.1429	1	-0.2727	0.5531	-0.1	1	-0.1364	1	-0.0039	1
mexr12	0.0409	0.7998	-0.0227	0.623	0.0876	0.0889	0.1007	0.1344	0.0653	0.2172
mexr32	0.6949	0*	0.5949	0.1034	0.6811	0*	0.8144	0*	0.72	0*
mexr33	-0.021	0.6949	-0.2579	0.4573	-0.2252	0.4318	-0.1201	0.2459	-0.0954	0.5116
mexr34	-0.1021	0.7333	-0.0063	0.0239	-0.0811	0.873	-0.0244	0.9584	-0.0157	0.3326
mexr13	-0.1126	0.7215	-0.2429	0.399	0	0.3018	-0.0668	0.8401	-0.0374	0.7168

Los valores de F_{IS} para *O. c. cozumelae* se encontraron entre -0.1076 y 0.1001, sin ninguna desviación significativa del equilibrio H-W.

5. Desequilibrio de ligamiento

En el caso de *R. spectabilis*, se encontró desequilibrio de ligamiento (DL) significativo para dos pares de loci (mexr16/mexr34 y mexr19/mexr12) de las 36 combinaciones posibles, ambos al analizar la población en conjunto (Anexo 4). Para *O. c. cozumelae* sólo el par de loci Ory03/Ory28 presentó un DL significativo ($p < 0.05$ con corrección de Bonferroni).

6. Diversidad genética

Los análisis de diversidad para *R. spectabilis* por grupo y en la población en conjunto mostraron un rango de 2 (mexr23, grupo 1, 2 y 3) a 18 alelos (mexr13, población en conjunto) y un promedio de 12.5 alelos para toda la población (Cuadro 5). El rango de alelos efectivos varió de 1.2 (mexr23, grupo 3) a 9.7 (mexr19, población en conjunto), con una media de 7.09. Todos los grupos presentaron alelos privados para al menos un locus: el grupo 1 mostró seis alelos exclusivos en cinco loci, el grupo 2 tuvo un alelo exclusivo para mexr12, el grupo 3 presentó tres alelos exclusivos en 3 loci y el grupo 4 13 alelos exclusivos en 8 loci (Cuadro 5). La heterocigosidad observada (H_o) promedio varió entre grupos de 0.768 (grupo 3) a 0.828 (grupo 2), mientras que para la población en conjunto fue de 0.79. Las heterocigosidades esperada (H_e) y de Nei (H_{NEI}) variaron entre grupos de 0.727-0.757 a 0.773-0.784, respectivamente, mientras que para la población en conjunto éstas fueron de 0.803 y 0.808. Los loci mexr22, mexr33 y mexr13 presentaron los niveles de H_o más altos, mientras que el locus mexr23 el más bajo, con 0.217 para el grupo 3 (Cuadro 5).

Cuadro 5. Valores de diversidad genética por locus para los cuatro clusters y para la población en conjunto de *R. spectabilis*. En negritas se resaltan los valores promedio. (N= tamaño de muestra, n_o =alelos observados, n_e = alelos efectivos, ae = número de alelos privados, H_o = heterocigosidad observada, H_e = heterocigosidad esperada, H_{NEI} = heterocigosidad esperada de Nei).

GRUPO	LOCUS	N	n_o	n_e	ae	H_o	H_e	H_{NEI}
1	mexr16	21	10	5.3787	0	0.8095	0.8140	0.8339
	mexr19	21	11	6.1946	0	0.8571	0.8385	0.8590
	mexr20	21	12	7.3662	2	0.8571	0.8642	0.8853
	mexr22	21	9	7.0759	1	0.9047	0.8586	0.8796
	mexr23	21	2	1.3247	0	0.2857	0.2451	0.2510
	mexr12	21	9	5.6501	1	0.8095	0.8230	0.8430
	mexr33	21	6	4.4314	0	0.8095	0.7743	0.7932
	mexr34	21	7	3.5616	1	0.8095	0.7192	0.7367
	mexr13	21	11	8.3096	1	1	0.8796	0.9011
	MEDIA	21	8.56	5.477	0.67	0.7937	0.7574	0.7759
2	mexr16	11	7	4.3196	0	0.9091	0.7685	0.8051
	mexr19	11	8	4.5683	0	0.6364	0.7811	0.8183
	mexr20	11	8	5.7654	0	0.8182	0.8266	0.8659
	mexr22	11	5	4.1783	0	1	0.7607	0.7969
	mexr23	11	2	1.9359	0	0.6364	0.4834	0.5065
	mexr12	11	7	4.2535	1	0.8182	0.7649	0.8013
	mexr33	11	5	3.3114	0	0.9091	0.6980	0.7313
	mexr34	11	4	3.224	0	0.7273	0.6898	0.7227
	mexr13	11	6	4.4853	0	1	0.7770	0.8141
	MEDIA	11	5.78	4.0046	0.11	0.8283	0.7278	0.7624

(Continuación cuadro 5)

GRUPO	LOCUS	N	n_a	n_e	ae	H_o	H_e	H_{NEI}
3	mexr16	23	9	4.5684	1	0.7391	0.7811	0.7985
	mexr19	23	11	5.4468	0	0.8261	0.8164	0.8345
	mexr20	23	12	6.577	0	0.9130	0.8480	0.8668
	mexr22	23	8	3.4593	0	0.6087	0.7109	0.7267
	mexr23	23	2	1.2411	0	0.2174	0.1942	0.1986
	mexr12	23	9	6.1417	1	0.8261	0.8372	0.8558
	mexr33	23	8	5.0688	1	1	0.8027	0.8206
	mexr34	23	7	4.7301	0	0.8696	0.7886	0.8061
	mexr13	23	13	9.4011	0	0.9130	0.89363	0.9135
	MEDIA	23	8.78	5.1816	0.33	0.7681	0.7414	0.7579
4	mexr16	35	12	7.0973	1	0.7714	0.8591	0.8716
	mexr19	35	12	6.5406	0	0.7714	0.8471	0.8594
	mexr20	35	14	8.1808	1	0.9143	0.8778	0.8905
	mexr22	35	11	8.0425	1	0.8571	0.8757	0.8884
	mexr23	35	3	1.3784	1	0.3143	0.2745	0.2785
	mexr12	35	10	5.9541	1	0.8857	0.8320	0.8441
	mexr33	35	9	4.5557	1	0.8857	0.7805	0.7918
	mexr34	35	10	4.9468	4	0.8286	0.7978	0.8094
	mexr13	35	13	5.5367	3	0.8858	0.8194	0.8313
	MEDIA	35	10.44	5.8036	1.44	0.7905	0.7738	0.7850
CONJUNTO	mexr16	90	13	7.3873	-	0.7889	0.8646	0.8695
	mexr19	90	13	9.7696	-	0.7889	0.8976	0.9027
	mexr20	90	17	9.2334	-	0.8889	0.8917	0.8967
	mexr22	90	12	7.1195	-	0.8222	0.8595	0.8643
	mexr23	90	3	1.4671	-	0.3222	0.3184	0.3202
	mexr12	90	15	8.7841	-	0.8333	0.8862	0.8911
	mexr33	90	10	5.4707	-	0.9	0.8172	0.8218
	mexr34	90	12	5.1315	-	0.8222	0.8051	0.8096
	mexr13	90	18	9.5006	-	0.9333	0.8947	0.8997
	MEDIA	90	12.5556	7.096	-	0.7889	0.8039	0.8084

Los valores observados para *O. c. cozumelae* se muestran en el cuadro 6. Se obtuvo una media de 9.8 alelos observados y 4.2 alelos efectivos. El mayor número de n_a fue en el locus Ory10 (14 alelos). Los valores de heterocigosidad observada, esperada y de Nei fueron, en promedio de 0.7, 0.68 y 0.69, respectivamente.

Cuadro 6. Valores de diversidad genética por locus para la población de *O. c. cozumelae*. En negritas se resaltan los valores promedio. (N =tamaño de muestra, n_a =alelos observados, n_e =alelos efectivos, H_o =heterocigosidad observada, H_e =heterocigosidad esperada, H_{NEI} =heterocigosidad esperada de Nei).

Locus	N	n_a	n_e	H_o	H_e	H_{NEI}
Ory03	90	9	3.4402	0.6421	0.7093	0.7131
Ory10		14	6.6594	0.9368	0.8498	0.8543
Ory16		12	4.9368	0.8421	0.7974	0.8017
Ory21		13	6.8831	0.8105	0.8547	0.8592
Ory28		7	3.395	0.6842	0.7055	0.7092
Ory40		8	2.6093	0.6526	0.6168	0.6200
Ory60		10	6.3226	0.9368	0.8418	0.8463
Ory64		9	2.3064	0.5579	0.5664	0.5694
Ory26		7	1.3505	0.2737	0.2596	0.2609
MEDIA		90	9.8889	4.2115	0.7041	0.6890

7. Distribución de frecuencias alélicas, genotípicas y diferenciación

Cuadro 7. Número total de alelos y genotipos observados para cada locus analizado en *R. spectabilis*.

LOCUS	ALELOS	GENOTIPOS
mexr16	13	42
mexr19	13	49
mexr20	17	50
mexr22	12	38
mexr23	3	4
mexr12	15	44
mexr33	10	25
mexr34	12	26
mexr13	18	52
TODOS	113	330

Para *R. spectabilis* se obtuvieron un total de 113 alelos entre los nueve loci (Cuadro 7). En conjunto, las frecuencias alélicas por locus varían en su valor máximo entre 0.806 y 0.167 y en su valor mínimo de 0.022 a 0.006 (Ver Anexo 8). Al evaluar la diferenciación alélica entre pares de grupos se encontró para todos los loci una diferenciación altamente significativa ($p < 0.05$ con corrección de Bonferroni) y en la mayoría de los casos cuando se evaluó por locus entre pares de grupos (Anexo 5a).

En cuanto a los genotipos para *R. spectabilis* se obtuvo un total de 330 para los 9 loci, variando de entre cuatro (locus mexr23) y 52 (mexr13) (Cuadro 7). Se observó un gran número de genotipos exclusivos entre grupos (ver anexo). Los genotipos homocigos por locus variaron de siete (mexr12) a dos (mexr23). El mayor

número de heterocigotos lo presentó el locus mexr13 (94% de los genotipos observados) y el menor el locus mexr23 con 50% (Ver Anexo 9). La diferenciación genotípica entre pares de grupos mostró que los genotipos no se distribuyen homogéneamente tanto al evaluar todos los loci en conjunto como por locus ($p < 0.05$, con corrección de Bonferroni) (Anexo 5b).

O. c. cozumelae presentó un total de 89 alelos y 207 genotipos entre los nueve loci evaluados. Con un rango de frecuencias alélicas de entre 0.0053 y 0.850, donde el locus Ory26 fue el que presentó mayor porcentaje de genotipos homocigotos. Al evaluar las poblaciones por localidad de muestreo no se encontró diferenciación alélica ni genotípica ($p > 0.05$ con corrección de Bonferroni), lo que confirma los resultados obtenidos con Structure, en donde se observa una única población (Anexos 6 y 7).

8. Estructura y diferenciación genética

Los valores de F_{ST} por locus para los grupos de *R. spectabilis* varían entre 0.026 (mexr20) y 0.177 (mexr23), mientras que en conjunto este valor es de 0.0604 (Cuadro 8). Los valores de D_{EST} y G'_{ST} oscilan entre 0.070 y 0.455; y 0.022 y 0.106, respectivamente.

Cuadro 8. Estadísticos F obtenidos según el método de Weir y Cockerham y estadísticos G'_{ST} y D_{EST} por locus para *R. spectabilis*

LOCUS	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}	G'_{ST}	D_{EST}
mexr16	0.0577	0.0517	0.1064	0.039	0.250
mexr19	0.0715	0.08	0.1458	0.039	0.322
mexr20	-0.0102	0.026	0.016	0.022	0.189
mexr22	0.0143	0.0484	0.0619	0.045	0.285
mexr23	-0.1601	0.1773	0.0456	0.106	0.070
mexr12	0.0102	0.0755	0.0849	0.058	0.332
mexr33	-0.1394	0.0527	-0.0794	0.037	0.164
mexr34	-0.054	0.0496	-0.0017	0.025	0.103
mexr13	-0.0793	0.053	-0.0221	0.063	0.455
TODOS	-0.0208	0.0604	0.0408	0.048	0.241

El AMOVA se realizó utilizando a los sitios muestreados como “poblaciones” y a los clusters obtenidos con STRUCTURE como “grupos”. Los resultados de F_{ST} mostraron que la variación se distribuye en mayor porcentaje entre los individuos, seguido de la variación entre grupos y entre poblaciones dentro de los grupos (ambas con valores significativos), mientras que no hay variación entre individuos dentro de cada población. Al repetir el análisis utilizando los valores de R_{ST} , se obtuvo nuevamente que el mayor porcentaje de variación esta dado entre individuos y entre poblaciones dentro de los grupos ($P=0.036$), un pequeño porcentaje entre

individuos dentro de cada población y no hay variación entre grupos (Cuadro 9). La variación entre grupos y entre poblaciones dentro de los grupos fue estadísticamente significativa.

Cuadro 9. AMOVA basado en los valores de a) F_{ST} y b) R_{ST} , tomando como grupos los clusters de *R. spectabilis* obtenidos de STRUCTURE y como poblaciones las localidades muestreadas (* $p < 0.05$ con corrección de Bonferroni). Abreviaturas: GL=grados de libertad, SC=suma de cuadrados, CV=coeficiente de variación.

a)

Fuente de variación	GL	SC	CV	% DE VARIACIÓN	P
Entre grupos	3	35.408	0.1316	3.5620	0.0101*
Entre poblaciones dentro de los grupos	3	12.189	0.0756	2.0475	0.0001*
Entre individuos dentro de cada población	83	284.197	-0.0630	-1.7046	0.8392
Entre individuos	90	319.5	3.55	96.0951	0.0547
Total		651.294	3.6943		

b)

Fuente de variación	GL	SC	CV	% DE VARIACIÓN	P
Entre grupos	3	3805.853	-45.6042	-9.30029	0.8836
Entre poblaciones dentro de los grupos	3	3292.787	74.2288	15.1379	0.0369*
Entre individuos dentro de cada población	83	39053.316	8.7943	1.7935	0.3918
Entre individuos	90	40764	452.9333	92.3690	0.0905
Total		86915.956	490.3522		

Se realizó un segundo análisis utilizando sólo los clusters, el cual mostró que tanto con F_{ST} y R_{ST} la variación se distribuye mayoritariamente entre individuos (95.92% y 91.9%, respectivamente; $p > 0.05$), seguida por la variación entre poblaciones (6.04% y 5.2%, respectivamente; $p < 0.001$) y finalmente entre individuos dentro de las poblaciones (1.96% [$p = 0.0412$] y 2.9% [$p = 0.0658$], respectivamente) (Datos no mostrados).

Otra estimación que se realizó para saber el grado de diferenciación entre grupos fue el cálculo de la distancia genética de Nei (D_{NEI}), obteniendo valores promedio de entre 0.35 (entre los grupos 1 y 4) y 0.64 (entre los pares de grupos [1 y 2] y [2 y 3]) (Cuadro 10).

Cuadro 10. Distancia genética de Nei calculadas por locus entre pares de grupos de *R. spectabilis*. Se resaltan en negritas los valores promedio.

	1 y 2	1 y 3	1 y 4	2 y 3	2 y 4	3 y 4
mexr16	0.8019	0.0831	0.2954	0.9543	0.7470	0.4180
mexr19	0.7259	0.7828	0.5971	2.0278	1.0377	0.6429
mexr20	0.9118	0.6105	0.2713	0.3584	0.4579	0.1565
mexr22	0.7446	0.4276	0.3885	0.4330	0.2127	0.2219
mexr23	0.3615	0.0010	0.0018	0.4084	0.3956	0.0014
mexr12	0.6535	0.6025	0.5818	0.3766	1.2796	0.6988
mexr33	0.2912	0.2876	0.3873	0.5043	0.1942	0.0572
mexr34	0.5797	0.5492	0.1532	0.0600	0.2257	0.2181
mexr13	0.7017	0.4704	0.4882	0.6704	0.2717	0.8391
MEDIA	0.6413	0.42385	0.3516	0.6437	0.5358	0.3615

Los resultados sobre F_{ST} locales para cada localidad de muestreo (Fig. 2), mostraron que la población CAPA 4.8 está más diferenciada del resto de las poblaciones (F_{ST} local= 0.124); mientras que Palmas y Potabilizadora presentaron los F_{ST} locales más bajos (0.03) (Cuadro 11).

Cuadro 11. Valores de F_{ST} locales obtenidos para cada localidad de muestreo de *R. spectabilis*

F_{ST}	MEDIA	MODA	Intervalos de confianza 95%
CAPA 4.4	0.0665	0.0634	[0.0369 – 0.0987]
CAPA 4.8	0.1240	0.1167	[0.0724 – 0.1787]
MANGLAR	0.0544	0.0282	[0.0003 – 0.1303]
MEZCALITOS	0.0698	0.0575	[0.0112 – 0.1347]
PALMAS	0.0377	0.0360	[0.0206 – 0.0565]
POTABILIZADORA	0.0384	0.0365	[0.0203 – 0.0588]
SANTA RITA	0.0668	0.063	[0.0367 – 0.099]

El análisis sobre los factores geográficos para determinar el modelo más probable que explicara la diferenciación observada mostró, para la primera prueba basada en ubicación geográfica (latitud y longitud), que el modelo más probable fue $M1=Constante$ (63.7%), es decir, que ninguno de los dos factores, ni su interacción, explican la diferenciación entre localidades. La segunda prueba permitió evaluar si la conectividad entre poblaciones (medida en distancias promedio) tenía algún efecto sobre los F_{ST} locales, y el modelo más probable fue nuevamente $M1=Constante$, con una probabilidad del 86.4%, lo que significa que la conectividad entre poblaciones tampoco explica la diferenciación genética que existe.

La figura 3 representa un árbol filogenético de las localidades muestreadas. Se observan dos grupos, en donde las localidades Potabilizadora y CAPA 4.8 son las dos más diferenciadas. La diferenciación entre localidades se muestra en el cuadro 12. La mayor diferenciación se observa entre las localidades [CAPA 4.4 y CAPA 4.8] y [CAPA 4.8 y Potabilizadora].

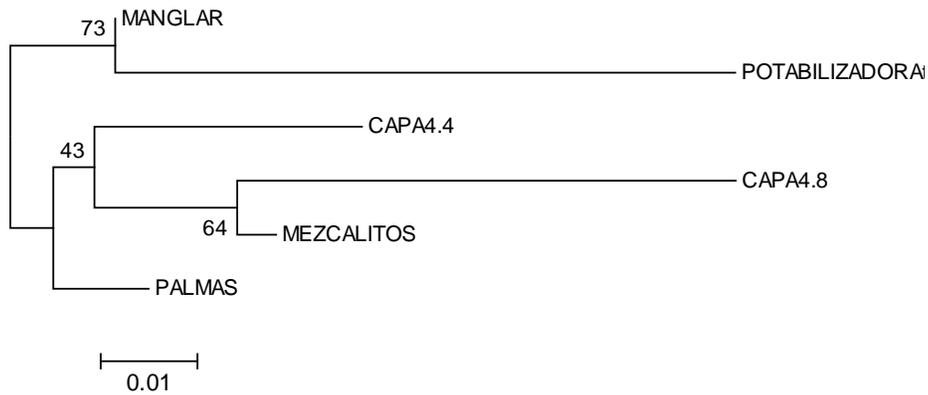


Fig. 3. Árbol filogenético por el método de NJ utilizando F_{ST} corregido por el tamaño de muestra para las localidades muestreadas de *R. spectabilis*. Los números en el árbol representan los valores de soporte por bootstrap.

Cuadro 12. Estadísticos de diferenciación genética entre las localidades muestreadas de *R. spectabilis*

LOCALIDADES		F_{ST}	R_{ST}	G'_{ST}	D_{EST}
CAPA 4.4	CAPA 4.8	0.0989	0.1277	0.055	0.4202
CAPA 4.4	Manglar	0.0497	0.2073	0.016	0.2965
CAPA 4.4	Mezcalitos	0.0421	0.0756	0.017	0.2359
CAPA 4.4	Palmas	0.0427	0.0035	0.020	0.2191
CAPA 4.4	Potabilizadora	0.0541	0.0005	0.029	0.2612
CAPA 4.8	Manglar	0.0844	0.2498	0.035	0.2646
CAPA 4.8	Mezcalitos	0.0616	0.0618	0.035	0.1695
CAPA 4.8	Palmas	0.0845	0.1004	0.051	0.3305
CAPA 4.8	Potabilizadora	0.0979	0.1424	0.063	0.3455
Manglar	Mezcalitos	0.0642	0.3401	0.018	0.2713
Manglar	Palmas	0.0246	0.1158	0.006	0.1539
Manglar	Potabilizadora	0.0088	0.1383	0.002	0.0419
Mezcalitos	Palmas	0.0248	0.0856	0.008	0.1493
Mezcalitos	Potabilizadora	0.0499	0.0984	0.021	0.2546
Palmas	Potabilizadora	0.0329	0.0196	0.017	0.1742

9. Aislamiento por distancia

Los resultados de aislamiento por distancia entre pares de poblaciones para *R. spectabilis* (por localidad de muestreo) mostraron un valor de R^2 de 0.155 ($r=0.3936$; $p=0.029$), lo que indica que existe una ligera, pero significativa, correlación entre la distancia genética y la distancia geográfica (Fig. 4).

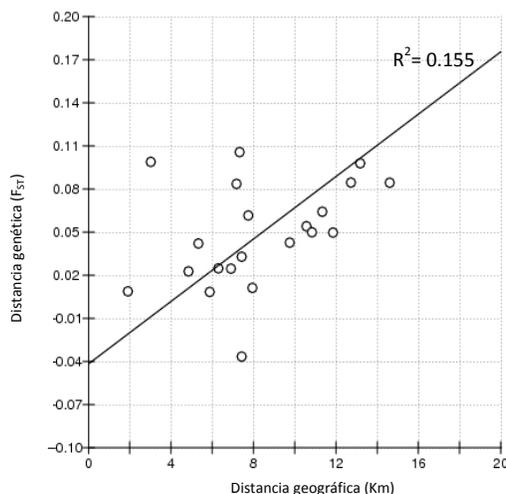


Fig 4. Gráfica de la correlación entre las distancias genéticas (F_{ST}) y geográficas (Km) entre pares de localidades de muestreo (círculos en blanco) de *R. spectabilis*.

10. Tamaño efectivo por población y parentesco

Para *R. spectabilis* se estimó un N_e total de 152.4 individuos, cálculo basado en el desequilibrio de ligamiento en un momento en el tiempo. Al separar por grupos se obtuvo un N_e máximo de 178.7 individuos para el grupo 4 y de tan sólo 11 individuos para el grupo 2 (Cuadro 13). En el caso de *O. c. cozumelae*, bajo las mismas condiciones de análisis, se estimó un N_e de 133.2 individuos (con intervalos de confianza al 95% de 106.3 a 174.3 individuos).

Cuadro 13. Tamaño efectivo (N_e) estimado con el método basado en desequilibrio de ligamiento (DL) y por exceso de Heterocigotos para los 4 grupos y la población en conjunto de *R. spectabilis*.

Población	DL		Exceso Heterocigotos
	N_e	Intervalo de confianza 95%	N_e
Grupo 1	70.2	[43.2-165.7]	32.1
Grupo 2	11	[8.2-15.8]	7.9
Grupo 3	84	[50.6-215.3]	28.2
Grupo 4	178.7	[103-573.4]	121.7
Conjunto	152.4	[123.7-195.1]	Infinito

El análisis de parentesco para *R. spectabilis* mostró que el 86% de los individuos no tienen una relación cercana de parentesco, que el 11.8% son medios hermanos y que el resto son padres-hijos o hermanos (Cuadro 13). Al evaluar por grupos se encontró que en todos los casos más del 80% de los individuos no presentan un parentesco cercano, entre el 3% y 9.1% son medios hermanos y sólo una pequeña porción corresponde a relaciones padre-hijo o hermanos completos. Sólo en el grupo 2 se observa un mayor porcentaje de parentesco padre-hijo (7.3%) en relación al resto de los grupos (Cuadro 14). Para *O. c. cozumelae* se estimó que el 80.07% de los individuos no tienen parentesco, mientras que el 15.25% son medios hermanos, el 2.28% son hermanos y el 2.4% tienen una relación padres-hijos.

Cuadro 14. Porcentaje de las relaciones de parentesco para cada grupo y para la población en conjunto de *R. spectabilis*.

Parentesco	Grupos (%)				Conjunto (%)
	1	2	3	4	
Padres e hijos	1.43	7.27	0.79	0.50	0.40
Hermanos	0.48	7.27	1.19	1.01	0.85
Medios hermanos	6.19	3.64	7.51	9.08	11.76
Sin parentesco cercano	91.90	81.82	90.51	89.41	86.99

11. Flujo génico

El análisis para detectar migrantes de primera generación entre localidades de muestreo reveló que nueve individuos de *R. spectabilis* eran potencialmente migrantes ($p < 0.01$) (Cuadro 3). Una vez asignados todos los individuos a un *cluster* determinado se observó que el grupo 3 (integrado en su mayoría por individuos provenientes de Palmas) recibe un 36% de individuos provenientes de otros grupos. En el cuadro 3 se enlistan las poblaciones de origen probables en relación al sitio en donde fueron capturados dichos individuos. Se realizó una segunda prueba con GENEPOP, pero ahora utilizando los cuatro grupos definidos por STRUCTURE, con el que se obtuvo un estimado de 3.91 migrantes, lo que puede estar relacionado con los individuos que tuvieron un porcentaje de asignación bajo (Ver asignación de individuos y Cuadro 2). Además se calcularon las tasas de migración para la última generación utilizando el programa BIMr (Cuadro 15), observando valores muy pequeños entre poblaciones.

Cuadro 15. a) Tasas de migración y b) coeficientes de endogamia de la última generación entre las poblaciones por localidad de muestreo de *R. spectabilis* obtenidas de BIMr. Abreviaturas: D.E=desviación estándar.

a) Tasas de migración

De/Para	CAPA 4.4	CAPA 4.8	MANGLAR	MEZCALITOS	PALMAS	POTABILIZADORA	SANTA RITA
CAPA 4.4	1	2.5461E-10	2.6886E-10	2.3705E-10	2.3252E-10	2.5803E-10	3.1999E-10
CAPA 4.8	4.4869E-10	1	4.0156E-10	3.4878E-10	3.6123E-10	3.5173E-10	3.3857E-10
MANGLAR	2.0369E-10	2.7585E-10	1	2.1899E-10	2.0938E-10	2.9517E-10	2.2401E-10
MEZCALITOS	4.0238E-10	3.5423E-10	3.8446E-10	1	3.7436E-10	3.6999E-10	3.6429E-10
PALMAS	2.8841E-10	2.9506E-10	2.3393E-10	2.3229E-10	1	2.3945E-10	2.2958E-10
POTABILIZADORA	3.5717E-10	3.8659E-10	4.2719E-10	3.6756E-10	3.4049E-10	1	3.6272E-10
SANTA RITA	4.0978E-10	3.7750E-10	4.0993E-10	3.9840E-10	3.8561E-10	4.1803E-10	1

b) Coeficientes de endogamia

Población	Media	D.E
CAPA 4.4	0.0256	0.0212
CAPA 4.8	0.0216	0.0202
MANGLAR	0.0857	0.0727
MEZCALITOS	0.0685	0.0551
PALMAS	0.0172	0.0145
POTABILIZADORA	0.0189	0.0159
SANTA RITA	0.1018	0.0919

DISCUSIÓN

Este trabajo representa el primer estudio genético comparativo sobre la variación genética de dos roedores insulares y endémicos. Se encontraron diferencias genéticas entre especies, principalmente en la distribución de la variación genética, pues mientras que *O. c. cozumelae* se comportó como una población panmíctica, *R. spectabilis* mostró una clara estructuración y limitado flujo génico, probablemente debido a su poca vagilidad, su especificidad de hábitat y el comportamiento antidepredatorio que presenta.

Ambos roedores presentan niveles altos de diversidad genética ($H_o = 0.70$ y 0.78) y alélica ($n_a = 9.88$ y 12.56), que se contraponen con lo esperado bajo la teoría de genética de poblaciones en islas, la cual indica que las poblaciones insulares presentan menor variación genética que su contraparte continental (Franham, 1997). Otros estudios en mamíferos pequeños con poblaciones insulares han asociado valores bajos diversidad genética a factores como aislamiento (Bidlack y Cook, 2002), efecto fundador y densidades poblacionales bajas (Jones et al., 2004; Abdelkin et al., 2005), a la presencia de endogamia (Eldridge et al., 1999; Eldridge et al., 2004), e incluso, debido al tamaño pequeño de la isla (Hinten et al., 2003; White y Searle, 2007). Sin embargo se ha observado que especies insulares con elevada capacidad de dispersión, como los murciélagos (Mendoza-Martínez, 2011; Fleming y Murray, 2009; Yoshino et al., 2008; Rossiter et al., 2000), y aquellas que habitan islas de grandes extensiones (Hinten et al., 2003; White y Searle, 2007) mantienen una alta variación genética ($0.6 < H_e < 0.8$). Esto, probablemente se deba a que islas grandes pueden mantener poblaciones de tamaños mayores y a su vez permite presentar más altas tasas de migración.

En este estudio confirmamos la inusual diversidad genética alta de *O. c. cozumelae* que ya había sido observada por Vega y colaboradores (2007), asociada tal vez con un tamaño de población suficientemente alto como para evitar la endogamia y la deriva génica, y permitiendo así mantener los niveles de diversidad genética y alélica que presenta. Sin embargo, a pesar de que en los últimos años ha habido una importante pérdida de cobertura vegetal en Cozumel y una disminución significativa en las densidades poblacionales de los roedores (ver Capítulo 3), éstas continúan manteniendo altos niveles de diversidad genética, por lo que es posible que a) no haya pasado el tiempo suficiente para ver un efecto significativo o b) otros mecanismos genéticos y ecológicos estén jugando un papel importante.

El hecho de que *O. c. cozumelae* se comporte como una única población dentro de la isla indica que su capacidad de dispersión ha ayudado a mantener la diversidad genética de la especie, aún en presencia de densidades poblacionales bajas, como las que pueden resultar después del paso de huracanes. Diferentes estudios ya han demostrado como la migración, aun a tasas bajas, es altamente benéfica ya que previene la endogamia, aumenta la adecuación y favorece el crecimiento poblacional (Vilà et al., 2003). De hecho, se ha observado que la llegada de un solo migrante puede incrementar la heterocigosidad y la propagación de nuevos alelos en poblaciones genéticamente aisladas (Vilà et al., 2003; Waite et al., 2005; Adams et al., 2011).

Los requerimientos de hábitat también pueden estar asociados a la distribución de la diversidad genética que caracteriza a cada especie. Se ha observado que la disponibilidad de alimento, la estructura de la vegetación, el tamaño del parche e incluso la posibilidad de dispersión a través de la matriz determinan la abundancia, distribución y el grado de aislamiento de las poblaciones de roedores (Anderson, 2004).

O. c. cozumelae, además de ser un roedor generalista, es un buen dispersor a través de grandes extensiones de agua (Cook et al., 2001) y es posible encontrarlo tanto en bosque primario como en zonas perturbadas y no presenta efectos de borde asociados a perturbación (Fuentes-Montemayor, 2009). Además, su abundancia tampoco tiene relación con variables como disponibilidad de refugio, cobertura vegetal del sotobosque, cantidad de semillas o densidad de árboles (Gutiérrez-Granados, 2003); por lo que al parecer no hay factores ecológicos que limiten su dispersión a lo largo y ancho de la isla, lo que permite que el flujo génico diluya los efectos de otros procesos evolutivos que podrían generar diferenciación. Esta característica parece ser común en otros mamíferos; por ejemplo, Estes-Zumpf et al. (2010) observaron que el conejo pigmeo *Brachylagus idahoensis* conforma un único grupo aún con localidades separadas por más de 14 km y separadas por caminos y arroyos.

Además, la diversidad genética reportada aquí para ambos roedores en la isla podría estar favorecida con otros procesos evolutivos como la selección, sobre todo por el ambiente altamente cambiante (estacionalidad y ocurrencia de huracanes) y las fluctuaciones en las densidades poblacionales que se han observado (Gutiérrez-Granados, 2003). Se ha descrito que la selección puede retardar la pérdida de variación genética actuando a favor de los heterocigotos, confiriendo ventajas para adaptarse y “responder” de forma efectiva a ambientes cambiantes (Reed y Frankham, 2003; Bensch et al., 2006); o bien, reteniendo alelos alternos durante periodos de decremento y recuperación de las poblaciones y manteniendo con ello altos niveles de diversidad genética (Pemberton et al., 1996). Sin embargo, dado que para el presente trabajo se utilizaron microsatélites (considerados como marcadores neutros), es necesario realizar estudios posteriores con un mayor número de marcadores, sujetos a selección y que engloben características morfológicas, fisiológicas e historias de vida, así como asociar variables medioambientales, que permitan determinar el papel de la selección sobre la diversidad genética de estas poblaciones (Chapman et al., 2009).

El caso de *R. spectabilis* requiere aún mayor atención, ya que además de mantener una alta diversidad, presenta una clara estructura a lo largo de la isla. El análisis de agrupación permitió definir cuatro subgrupos: uno al norte de la isla, otro al noreste y otros dos al centro. Dicha estructuración, que coincide con un sin número de estudios en poblaciones naturales (por ejemplo, Ehrich et al., 2001; Coulon et al., 2006; Gauffre et al., 2008; Meyer et al., 2009; Mapelli et al., 2012), refleja el aislamiento geográfico y ecológico que presentan las poblaciones de este roedor. En primer lugar la distancia entre poblaciones es una limitante en el intercambio genético entre subgrupos (evidenciado con el efecto de aislamiento por distancia que se observó) que, junto

con la deriva génica, los tamaños efectivos locales y otros procesos evolutivos, probablemente han generado el grado de diferenciación que actualmente presentan sus poblaciones ($F_{ST\ LOCAL}$ = entre 0.037 y 0.124).

En comparación con *O. c. cozumelae*, parece ser que sí hay factores ecológicos en *R. spectabilis* que están determinando su estructuración, ya que sus requerimientos de hábitat son mucho más específicos: tiene mayor preferencia por sitios no perturbados, con abundante cobertura vegetal y alejados de los bordes (Fuentes-Montemayor, 2009); además su distribución podría estar delimitada según la estructura de la vegetación debido a sus hábitos semiarborícolas, formando “parches” con poca dispersión entre subpoblaciones y favoreciendo así la diferenciación genética. Sin embargo, existen pocos estudios que evalúen la importancia en la especificidad de hábitat sobre la estructura genética en mamíferos (Fisher y Owens, 2004; Loew et al., 2005).

Nuestros resultados sugieren que, aunque los individuos comparten alelos a lo largo de toda la isla, el comportamiento de *R. spectabilis* tiene profundos efectos en sus características genéticas. En primer lugar la fobia lunar que presenta como comportamiento antidepredatorio (Fortes-Corona, 2004) puede estar determinando que este ratón no se desplace a través de grandes extensiones, favoreciendo, nuevamente, la diferenciación entre las poblaciones de la isla. Otros estudios han relacionado las historias de vida, los procesos demográficos y la conducta con la estructura poblacional. La dispersión basada en algún sexo, el tamaño de la población, el sistema de apareamiento y los tiempos generacionales son los principales atributos involucrados. Por ejemplo, Rosenbaum y colaboradores (2002) encontraron asociaciones entre factores ambientales, éxito reproductivo y estructura genética en la ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*) y ya en 1995, Palsboll y colaboradores la habían asociado con la conducta migratoria. Vázquez-Domínguez et al. (2002) encontraron que la estructura social de *Liomys pictus* (filopatría en hembras y dispersión en machos) determina su estructura poblacional. Para el conejo *Oryctolagus cuniculus* el aspecto social más importante sobre la estructura genética es que los adultos se vuelven sedentarios una vez que se establecen en algún grupo (Daly, 1981). En murciélagos con estructura social, como *Cynopterus sphinx*, la formación de harems también genera una marcada estructura (Storz et al., 2001). Un estudio comparativo entre tres especies simpátricas mostró que en dos de ellas (*Antechinus agilis* y *A. swainsonii*) la distribución de su diversidad genética está basada en la dispersión por machos, mientras que la tercera (*Rattus fuscipes*), que presenta un tamaño corporal más pequeño y es más sensible a la fragmentación de hábitat, presenta un restringido flujo génico y la formación más marcada de “demes” (Kraaijeveld-Smit et al., 2007). Goossens et al. (2001) también atribuyen al comportamiento social de la marmota alpina (*Marmota marmota*) la diferenciación genética entre sus poblaciones.

Por otra parte, resulta relevante la diferenciación tan marcada de los dos subgrupos que se encuentran al centro de la isla, ya que estos tienen, en relación con el resto de los subgrupos, una distancia geográfica lineal relativamente pequeña (3.02 km). A pesar de que no se cuenta con información acerca de algún tipo de comportamiento social, es posible que *R. spectabilis* forme “grupos” bien definidos, que pudieran ser la causa de la alta diferenciación en esta zona. De hecho, Fuentes-Montemayor (2009) observó que al menos las

poblaciones de esta zona (CAPA) tienen estructuración en cuanto a su distribución en el parche por sexo y edad y que es más difícil encontrarlos en las zonas más cercanas a los bordes. Justo el grupo más diferenciado (CAPA 4.8) mostró deficiencia de heterocigotos en uno de sus loci (mexr19), lo que podría estar relacionado con cierta endogamia dada por la delimitación de dichos “grupos”. Esta misma diferenciación podría estar asociada además a los altos porcentajes de asignación que se obtuvieron para estos dos grupos. Otra explicación podría estar relacionada con las características de CAPA, ya que es la zona más conservada de la isla, lo que podría proveerles de refugio y alimento suficiente para que no sea necesario el desplazamiento a grandes distancias, contrario a las zonas norte y noreste que presentar cierto grado de perturbación y en donde los individuos pudieran verse forzados a moverse en busca de recursos.

De ahí la importancia de las localidades “Palmas” y “Potabilizadora”, ya que son los que reciben la mayor cantidad de migrantes (36%). En los últimos años ha aumentado la perturbación de estos sitios, principalmente por la remoción de selva para el establecimiento de caminos, potreros y zonas de extracción de material calcáreo (*obs. pers.*), lo que indiscutiblemente se traduce en la fragmentación y disminución del hábitat disponible, aislando a las poblaciones que ya se encuentran diferenciadas y limitando aún más su desplazamiento. Así, es urgente la implementación de medidas que permitan conservar estas importantes áreas para el mantenimiento y conectividad de las poblaciones de roedores en Isla Cozumel. Por ejemplo, la creación de áreas protegidas podría mitigar la destrucción del hábitat; detener la innecesaria construcción de caminos que fragmentan el paisaje y permitir que la conexión entre parches se restablezca y con ello se favorezca el flujo entre poblaciones. Además, es necesario realizar otros estudios que integren características del paisaje (por ejemplo, estructura de la vegetación y fragmentación de hábitat) para determinar si éstas tienen alguna relación con la estructura que presenta *R. spectabilis*, lo cual permitiría una propuesta más completa sobre los sitios y las conexiones necesarias para lograr su conservación.

Los tamaños efectivos estimados en este estudio fueron muy parecidos entre especies (~150 individuos). Sin embargo, en campo se ha observado que *O. c. cozumelae* presenta densidades censales mayores que *R. spectabilis*. Un problema del cálculo basado en el desequilibrio de ligamiento (el método empleado en este estudio) es que es muy sensible al tamaño de muestra, por lo que se puede sub- o sobreestimar el N_e verdadero (England et al., 2005). Utilizando métodos de estimación que involucran tasas de mutación, se ha calculado que el tamaño efectivo poblacional para *O. c. cozumelae* puede variar entre 720 y 72000 individuos (Vega et al., 2007), lo que además indica que nuestros estimados tienen una gran incertidumbre. El N_e es una medida que está directamente relacionada con la tasa de pérdida de diversidad genética y el incremento de endogamia dentro de una población; la regla general sugiere que los tamaños efectivos mayores a 50 son esenciales para minimizar los efectos de la consanguinidad, o de más de 500 para mantener la variación genética adaptativa (Allendorf y Ryman, 2002). Además, generalmente el N_e es mucho más pequeño que el tamaño censal de la población (N), en el orden del 10% de la población adulta para muchas especies naturales (Frankham, 1995), aunque es afectado por factores como fluctuaciones en el tamaño de la población, varianza en el éxito

reproductivo y proporción de sexos desigual, entre otros; lo que complica aún más su estimación. Ambos roedores presentan fluctuaciones debido a la estacionalidad en la isla y la proporción de sexos está ligada con un efecto de borde lo que podría estar afectando las estimaciones del tamaño efectivo, el cual podría ser todavía menor al estimado.

En cuanto a los valores de parentesco estimados, resulta interesante que para las dos especies, el mayor porcentaje sea de individuos sin alguna relación cercana de parentesco (arriba del 80% en ambos casos), ya que esto puede ser indicativo de que la probabilidad de entrecruza sea baja, un punto a favor en el mantenimiento de su diversidad y para hacer frente a los efectos de consanguinidad. Contar con información del total de individuos que conforman las poblaciones de roedores en la isla podría darnos un estimado mucho más preciso para este tipo de parámetros que conllevan cierto grado de incertidumbre, sin embargo, es posible que no varíe demasiado dada la dinámica poblacional que presentan los roedores, pues se han encontrado individuos reproductivamente activos todo el año (Fortes-Corona, 2004) y al parecer las reducciones poblacionales que se presentan por estacionalidad no son lo suficientemente drásticas como para producir un cuello de botella (Capítulo 4).

CONCLUSIONES

Conservar la riqueza biológica que posee Isla Cozumel es una prioridad urgente, sobre todo actualmente que la isla enfrenta serías amenazas de conservación. Este trabajo constituye una aportación más al conocimiento genético de los vertebrados en la isla, en especial por constituir un estudio comparativo de dos especies endémicas y en peligro de extinción.

En primer lugar, los altos niveles de diversidad genética y alélica que poseen ambos roedores ponen de manifiesto que sus poblaciones cuentan aún con las herramientas genéticas necesarias para responder y sobrevivir al ambiente tan cambiante en el que habitan. Parece ser que, además del tamaño de Cozumel, la migración es el principal factor que permite a *O. c. cozumelae* mantener los niveles de variación genética que presenta, mientras que los cambios en el ambiente y las fluctuaciones en las densidades poblacionales podrían estar involucrados como causa de los altos niveles de variación genética que presenta *R. spectabilis*.

La diferencia más significativa entre especies está en la forma en cómo se distribuye dicha variación. Mientras que *O. c. cozumelae* se comporta como una única población, *R. spectabilis* se estructura en cuatro subgrupos repartidos al norte, noreste y centro de la isla. Es posible que su historia de vida y sus requerimientos ecológicos estén determinando estas diferencias. Los hábitos generalistas y la versatilidad para desplazarse por diferentes tipos de hábitat que presenta *O. c. cozumelae* le permiten su dispersión por toda la isla, favoreciendo que el flujo génico diluya los efectos de otros procesos evolutivos que generan diferenciación, dando como resultado que esta especie se comporte como una población panmíctica. De forma contraria, la especificidad de hábitat de *R. spectabilis*, así como su comportamiento antidepredatorio y la organización por sexo y edad que presenta, podrían estar determinando su estructuración aún a distancias cortas. La diferenciación que presentan los subgrupos podría explicarse asimismo por su poca capacidad de dispersión, misma que se asocia al aislamiento por distancia que presentan.

Aun compartiendo el mismo espacio geográfico, caracterizado además por un efecto de aislamiento, cada especie tiene una historia que define sus características genéticas. Dicha información resulta fundamental, sobre todo en especies como *O. c. cozumelae* y *R. spectabilis* que se encuentran en peligro de extinción. De tal forma que es de vital importancia detener la fragmentación y pérdida de hábitat que actualmente ocurre en Isla Cozumel, mediante la creación de nuevas áreas naturales protegidas, principalmente al norte y centro de la isla, en donde se distribuyen en mayor medida los roedores, en especial *R. spectabilis*, quien presenta un mayor riesgo.

CAPÍTULO 4

Consecuencias genético-poblacionales de los huracanes Emily y Wilma en los roedores de Isla Cozumel

INTRODUCCIÓN

En la literatura existen muy pocos estudios que registren el impacto de huracanes en poblaciones de mamíferos pequeños insulares (Fleming y Murray, 2009; García-Aguilar, 2010). Este trabajo es el primer estudio comparativo para México del impacto, a nivel genético, de los huracanes sobre dos especies de roedores endémicos y con una amenaza crítica de conservación.

1. Huracanes y sus efectos

Actualmente, gran parte de los ecosistemas tropicales se encuentran amenazados o deteriorados por las actividades humanas o por la acción de fenómenos naturales (Filip y Moheno, 2007). Entre los impactos ambientales de origen antropogénico están la pérdida de hábitat, el cambio de uso de suelo, la introducción de especies exóticas y el cambio climático. Entre las de origen natural encontramos la estacionalidad y los huracanes (Mimura et al., 2007; Lara-Lara, 2008; GCRP, 2010).

Un huracán es un ciclón tropical en el cual los vientos alcanzan una velocidad mayor a 119 km/h. El uso del término huracán está restringido al Océano Atlántico, pues el mismo tipo de tormenta en el Océano Pacífico se denomina tifón (Gannon y Willing, 2009). Los huracanes son clasificados por su intensidad en cinco categorías según el índice de Saffir-Simpson; las categorías —en jerarquía de mínimo (1) a catastrófico (5)—, son definidas según la velocidad de los vientos y el potencial para causar daño (Lugo, 2008; Gannon y Willing, 2009). Los huracanes impactan áreas extensas, tienen una duración de horas a días y una recurrencia que puede ir de uno a miles de años (Wittaker y Fernández-Palacios, 2007; Lugo, 2008). Por la velocidad de los vientos, las inundaciones y demás efectos colaterales —por ejemplo, la pérdida de vegetación—, los huracanes pueden cambiar la estructura y función de las comunidades ecológicas en tan sólo unas horas (Willig y McGinley, 1999; Filip y Moheno, 2007) y tener efectos a escalas temporales amplias (Imbert y Portecop, 2008). Los huracanes son comunes en el Caribe, donde se han reportado aproximadamente 800 huracanes en los últimos cien años, los cuales presentan un amplio rango de variabilidad en frecuencia, tamaño e intensidad tanto espacial como temporal y, por lo tanto, generan diferentes niveles de respuesta en los ecosistemas que afectan (Lugo, 2000, 2008; Fleming y Murray, 2009). Se sugiere que el papel ecológico de los huracanes implica seis efectos principales (Lugo, 2008):

1. Cambian el espacio ecológico disponible para los organismos,
2. Generan que los organismos se muevan,

3. Aumentan la heterogeneidad del paisaje y la variabilidad en los procesos de los ecosistemas,
4. Rejuvenecen el paisaje y sus ecosistemas, y reorientan las sucesiones,
5. Dan forma a la estructura del bosque, afectan su composición y la diversidad de especies, regulan su función, e,
6. Inducen cambios evolutivos por selección natural y conducen a una larga lista de adaptaciones estructurales y funcionales en los organismos.

Dichos efectos se han dividido según la escala temporal en la que ocurren y en relación a los procesos que ocurren dentro de la comunidad que ha sido dañada. Los efectos *inmediatos* son causados por la intensidad del disturbio: marcada defoliación, remoción de árboles, cambios en el microambiente (intensidad de luz, temperatura, humedad), elevada mortalidad de organismos, disminución del espacio utilizable y en la disponibilidad del alimento (Tanner et al, 1991; Lugo, 2008). A *corto plazo* (los primeros 5-10 años) continúa la mortalidad y se altera la distribución espacial de los individuos, debido a que origina el movimiento de los organismos hacia hábitats disponibles, se altera la estratificación de la comunidad, se induce plasticidad de alimentación (genera cambios de dieta y reduce la tasa de consumo), disminuye el éxito reproductivo de los organismos y en situaciones más severas pueden ocurrir extinciones locales (Lugo, 2000, 2008).

A *mediano plazo* (después de los 10 años y hasta los 50) continúa la mortalidad, aunque dependiendo de la especie, algunas poblaciones comienzan a recuperarse. Se generan además oportunidades para un cambio en la dirección de sucesiones, ocurre alto recambio y sustitución de especies, aumenta la riqueza por la presencia de especies pioneras, el recambio de biomasa y nutrientes es más rápido y, debido a que hay una menor biomasa aérea, se generan modificaciones en las reservas de carbono (Willig y McGinley, 1999; Lugo, 2000, 2008).

Los efectos a *largo plazo* (después de los 50 años) están pobremente documentados, aunque se relacionan con cambios en la estructura de la comunidad, presión selectiva de organismos y adaptaciones locales (Lugo, 2000, 2008).

Las poblaciones pueden responder positiva o negativamente según las alteraciones que hayan ocurrido (Willing y McGinley, 1999). En este sentido, se han propuesto cuatro teorías sobre la respuesta de los organismos a una perturbación de este tipo (Spiller et al., 1998):

1. los organismos grandes podrían ser más resistentes que los pequeños a los impactos inmediatos,
2. las especies pequeñas sobrevivientes podrían recobrase más rápido debido a su tasa de reproducción,
3. el riesgo de extinción está en función del tamaño de la población, y
4. cuando una población es exterminada por un disturbio catastrófico la recuperación estará determinada por la habilidad de dispersión y recolonización.

Una conclusión general de los estudios que han evaluado el efecto de los huracanes sobre los vertebrados es que las consecuencias sobre las poblaciones están relacionadas con el tipo de recursos que los organismos utilizan. Por ejemplo, la pérdida de cobertura vegetal da como resultado una disminución de frugívoros y nectarívoros debido a una baja en la producción de los recursos que utilizan estas especies. Por el contrario, la descomposición de las hojas, ramas y otros materiales depositados en el suelo, generan un ambiente adecuado para la recuperación y el desarrollo de insectos y otros vertebrados, de manera que los insectívoros y omnívoros pueden acelerar su recuperación hasta un estado cercano al de pre-huracán (Copa, 2007). Por ejemplo, Klingler (2006) encontró que, después del huracán Iris, la producción de frutos en la Reserva Natural Blanden, en Belice, cesó por dos años, lo que disminuyó la abundancia de dos roedores frugívoros especialistas (*Ototylomys phyllotis* y *Oryzomys rostratus*), mientras que otro roedor oportunista (*Heteromys desmarestianus*) utilizó los frutos disponibles para sobrevivir manteniendo su abundancia en los años posteriores al huracán. Por su parte, un roedor folívoro (*Sigmodon hispidus*) aumentó su abundancia gracias al incremento de rebrotes y de vegetación herbácea durante los años subsiguientes al huracán.

Otros efectos sobre los organismos están relacionados con cambios en la estructura tridimensional de la vegetación, la pérdida de refugios y de áreas de forrajeo, la fragmentación del hábitat, los cambios en las densidades de depredadores y presas, así como de las condiciones de microhábitat (Waide, 1991; Willig y McGinley, 1999). Para mamíferos se han registrado modificaciones en los patrones de movimiento de tipo social y de comportamiento, así como en el esfuerzo reproductivo y la tasa de sobrevivencia (Copa, 2007). Algunos estudios con roedores han puesto en evidencia cómo un huracán podría comprometer la habilidad de las poblaciones a sobrevivir, sobre todo por las tasas de mortalidad, disponibilidad de alimento y refugio (Swilling et al., 1998). Por ejemplo, en el Refugio Bon Secour, en Alabama, se registró que la población de roedores (*Peromyscus* sp) disminuyó hasta un 30% su tamaño poblacional tras el huracán Opal. Además estos se desplazaron temporalmente hacia las zonas de transición arbustivas, áreas que aparentemente les proveían refugio y recursos, hasta que el bosque recuperó su estado pre-huracán (Swilling et al., 1998). Después del mismo evento, Oli et al. (2001) realizaron un análisis de viabilidad para *Peromyscus polionotus*, un roedor amenazado, observando que después del huracán la probabilidad de extinción se incrementó al 48%, debido principalmente a la disminución poblacional y a la pérdida de hábitat.

Es importante mencionar que se conoce poco sobre las consecuencias genéticas que tiene un huracán en las poblaciones de vertebrados. En un estudio con tres especies de murciélagos en las islas Cayman se observó que a pesar de la significativa disminución del tamaño poblacional ocurrida después del huracán Iván, no se observó disminución en la diversidad alélica ni en la heterocigosidad de 8, 9 o 10 marcadores microsatélites en ninguna población (dependiendo de la especie). Por el contrario, una de las especies (*Artibeus jamaicensis*), incrementó su diversidad de haplotipos mitocondriales, lo que sugiere que el huracán favoreció la dispersión favorecida por el huracán. Los autores concluyen que es poco probable que la reducción en el tamaño poblacional resulte en pérdidas sustanciales de diversidad genética, a menos que los niveles de la población

permanezcan muy bajos por un periodo de tiempo prolongado (Fleming y Murray, 2009). Por su parte, Busch *et al.* (2007) no pudieron detectar ningún cuello de botella genético en poblaciones de la rata canguro (*Dipodomys spectabilis*) en Arizona, E.U., incluso en muestras tomadas inmediatamente después del huracán. Esto podría deberse a una elevada tasa de mutación, inmigración indetectable y marcadas fluctuaciones demográficas de manera estocástica, confundiendo de alguna manera los análisis para detectar cuellos de botella utilizando microsatélites. Para otros taxa como *Pinus elliottii* var. *densa*, un árbol longevo y polinizado por viento, se ha encontrado que los huracanes reducen la estructura genética espacial a escala fina, pero no alteran la diversidad genética (Williams *et al.*, 2007).

La importancia de monitorear el estatus genético de las poblaciones después de un huracán resulta entonces evidente. En primer término porque casi no existe información de este tipo que permita documentar el proceso de recuperación de las poblaciones post-huracán, y en segundo porque, dado que los efectos pueden ser diferentes dependiendo de cada especie (reduciendo, manteniendo e incluso favoreciendo la diversidad genética), sería difícil e incorrecto generalizar las consecuencias genéticas que trae consigo el paso de un huracán (Fleming y Murray, 2009).

2. Huracanes Emily y Wilma

Emily y Wilma fueron dos de los huracanes más fuertes del año 2005, ambos causaron estragos importantes en el Caribe mexicano. El primero (de categoría 4 según la escala Saffir-Simpson y con un Índice de peligrosidad de "Severo") tocó las costas de la península de Yucatán el 17 de julio con vientos sostenidos de 215 km/h y lapsos de hasta 260 km/h; el ojo del huracán pasó a 5 km de la punta sur de Cozumel con dirección sureste, por lo que la intensidad de los vientos disminuyó hacia el norte de la isla (Hernández y Bravo, 2005a; Álvarez-Filip y Nava-Martínez, 2006). Por su parte Wilma, uno de los huracanes más destructivos de los que se tenga registro, afectó a la isla del 20 al 22 de octubre. Wilma fue el huracán más intenso registrado en el Océano Atlántico (el décimo a nivel global), con la más baja presión atmosférica jamás registrada en el Hemisferio Oeste: 882 millibares a nivel del mar. Este huracán impactó Cozumel con vientos sostenidos de 230 km/h y rachas de hasta 300 km/h, avanzando a una velocidad menor a los 5 km/h con dirección noroeste. El ojo del meteoro, que alcanzó los 63 km de diámetro, pasó casi completamente sobre Cozumel, tiempo en el que estuvo clasificado en los límites entre las categorías 4 y 5, con un Índice de peligrosidad de "Severo" (Hernández y Bravo, 2005b; Álvarez-Filip y Nava-Martínez, 2006). Después del paso de Emily, más del 50% de los individuos muestreados en zonas de selva media perennifolia y de arrecifes no sufrieron daño aparente, lo que podría indicar cierta resistencia a este tipo de eventos. Pero después de Wilma, sólo un pequeño porcentaje de individuos permaneció inalterado (Filip y Moheno, 2007).

3. Cuellos de botella

Uno de los efectos más evidentes de los huracanes sobre las poblaciones naturales es la disminución demográfica drástica, producto de una elevada mortalidad de individuos. Esta reducción abrupta en el tamaño de la población se conoce como cuello de botella, un proceso que puede tener serias repercusiones sobre las poblaciones (Allendorf y Luikart, 2007; Cristescu et al., 2010; Frankham et al., 2010). A nivel genético, un cuello de botella genera pérdida de variación genética, cambios bruscos en las frecuencias alélicas, expone alelos deletéreos e incrementa la endogamia (Ramakrishnan et al., 2005; Hamilton, 2009). Como resultado, la adecuación de las poblaciones se ve comprometida, volviéndose más vulnerables (Weber et al., 2004). De hecho, se ha observado que incluso después de recobrar su tamaño previo, las poblaciones que han sufrido un cuello de botella continúan siendo propensas a la extinción (Bijlsma et al., 2000).

El impacto de un cuello de botella en la variación genética depende de dos factores críticos: el tamaño efectivo inicial de la población y el tiempo de duración del mismo, así como de las características genéticas de los sobrevivientes. Además, la historia de vida y el comportamiento reproductivo pueden amplificar el efecto de un cuello de botella (Pertoldi et al., 2001), aunque el impacto puede minimizarse si la recuperación subsecuente es rápida (Miller y Hedrick, 2001). Otros factores que pueden influir en los efectos genéticos de un cuello de botella son el azar, asociado a procesos estocásticos que ocurren en poblaciones pequeñas, y la selección, relacionada con el efecto de purga y la adecuación de las poblaciones remanentes (Bouzat, 2010). A pesar de que en general se esperan repercusiones negativas en las poblaciones después de un cuello de botella, y debido a los múltiples procesos que éste involucra, es posible que los efectos sean especie-específicos. Por una parte, se ha observado en un sinnúmero de poblaciones de distintos organismos seguidas a un evento de cuello de botella signos de disminución en la diversidad genética y depresión por endogamia (Pertoldi et al., 2001; Hoelzel, 1999; Vilà et al., 2003; Bradshaw et al., 2007; Frankham et al., 2010). En contraparte, otros estudios han sugerido que después de un cuello de botella la variación genética no cambia e incluso puede aumentar, favoreciendo además la adecuación de la población (Miller y Hedrick, 2001; Bouzat, 2010).

HIPÓTESIS

En un trabajo anterior, García-Aguilar (2010) observó una tendencia a pérdida de diversidad genética en *O. c. cozumelae*, luego de 1-2 años del paso de los huracanes. A partir de estos resultados podemos partir de una primera hipótesis en la que esta pérdida se haga evidente: las poblaciones de *O. c. cozumelae*, luego de 5 años del paso de los huracanes, presentarán pérdida de diversidad genética y mayor estructuración, en comparación con los valores observados en las poblaciones en los 1-18 meses posteriores a los huracanes.

Sin embargo, los huracanes son eventos que, como ya se ha descrito, se presentan con cierta frecuencia (aunque variable), generando respuestas en los organismos que se ven afectados. De tal forma que las poblaciones silvestres de Isla Cozumel podría presentar adaptaciones a este tipo de disturbios que les permiten una rápida recuperación o alta capacidad de resiliencia como estrategia de sobrevivencia. Bajo este supuesto, las tendencias hacia la pérdida de diversidad genética que observó García-Aguilar (2010) podrían ser un simple reflejo de la disminución poblacional producto de la mortalidad generada por los huracanes. Por lo anterior, una hipótesis alternativa permite contemplar una posible recuperación genética de las poblaciones: las poblaciones de *O.c. cozumelae*, luego de 5 años del paso de los huracanes, presentarán una diversidad y estructuración genética similar a las poblaciones pre-huracán, producto de su resiliencia a este tipo de disturbios.

Por su parte, y dadas sus condiciones ecológicas asociadas a su historia natural y su baja densidad poblacional (ver capítulo 3), es posible que *R. spectabilis* se vea más afectada por los huracanes (en comparación con *O. c. cozumelae*), aumentando el riesgo de extinción que ya de principio enfrenta. Podemos hipotetizar entonces que las poblaciones de *R. spectabilis* perderán diversidad genética y/o alélica y la diferenciación genética que presentan se verá acentuada en las poblaciones posthuracanes”.

OBJETIVOS

1. Evaluar los cambios en los niveles de variación y estructura genética de *O. c. cozumelae* en poblaciones de años posteriores a los huracanes de 2005.
2. Evaluar los cambios en los niveles de variación y estructura genética de *R. spectabilis* en poblaciones de años posteriores a los huracanes de 2005.
3. Comparar los efectos de los huracanes Emily y Wilma sobre las características genéticas de los roedores en la isla.
4. Generar información genética de ambas especies que sea útil para su correcta evaluación de conservación nacional (NOM) e internacional (IUCN) y para futuras propuestas de manejo y conservación.

MATERIALES Y MÉTODO

1. Trabajo de campo y obtención de tejido

Después del paso de los huracanes del 2005, el éxito de captura disminuyó considerablemente, sobre todo en CAPA, por lo que se establecieron otras localidades de muestreo a lo largo de toda la isla, logrando capturas pero en un número bajo. Los muestreos para roedores en la isla se reanudaron en 2011, retomando los sitios de los trabajos anteriores, principalmente en donde se había logrado el mayor número de capturas, y estableciendo nuevos lugares de captura, con la única premisa de ser sitios conservados y/o aptos para los roedores.

En cada sitio se colocaron, según el acceso a la zona, tres gradillas separadas aproximadamente por unos 200 m. Cada una contenía 7 x 10 trampas separadas entre sí por una distancia de entre 7 y 10 m; o bien, dispuestas en transectos con unas 200 trampas a izquierda y derecha separadas entre sí por 10 m. Las trampas fueron cebadas con una mezcla de avena, crema de cacahuete y vainilla y se mantuvieron activas en el mismo sitio de 1 a 4 noches consecutivas, con chequeo y recebo diario. De cada individuo capturado se tomó una muestra de tejido (oreja) que se conservó en etanol al 70%. Estas fueron procesadas como se explica en el capítulo 2, incluyendo la extracción de ADN, la amplificación de los microsátélites, el análisis de fragmentos y la genotipificación.

2. Análisis de datos

Todos los análisis genéticos que se describen a continuación se realizaron por separado para cada especie. En el caso de *O. c. cozumelae*, se utilizaron los genotipos que se obtuvieron en el Capítulo 3, a partir de las muestras procesadas por Vega (2006) (que se denominan población “pre-huracán”), los datos del trabajo de García-Aguilar (2010) (población “post-huracán”), y los genotipos de los individuos capturados en 2011, después de 6 años del paso de los huracanes (“población 2011”). Para *R. spectabilis* sólo se consideraron las poblaciones pre-huracán y post-huracán debido al poco éxito de captura durante los muestreos de 2011.

2.1. Análisis de diversidad y estructura genética

Se estimaron nuevamente el número de poblaciones utilizando las muestras de cada población (pre-huracán, post-huracán y 2011) independientemente. Con fines comparativos se realizó un segundo análisis con el programa STRUCTURE utilizando juntas las tres poblaciones (pre-huracán, post-huracán y 2011), bajo la hipótesis de que, de no haber diferencias, el programa detectaría una única población como el número más probable (K). Es importante mencionar que para este caso, las poblaciones no se consideran como sitios de muestreo, si no unidades a través del tiempo, aunque no se hace distinción *a priori* de los datos.

En la medida de lo posible, se realizaron de nuevo los análisis de diversidad, estructura genética, parentesco y tamaño efectivo descritos en el capítulo 2, utilizando los datos de todos aquellos individuos capturados después de los huracanes de 2005. También se hicieron pruebas de diferenciación alélica y genotípica entre poblaciones pre y post-huracán con el programa Genepop (Raymond y Rousset, 1995; Rousset, 2008), así como pruebas estadísticas descriptivas para comparar y evaluar diferencias entre los valores de diversidad y estructura genética obtenidos en las poblaciones antes y después de los huracanes.

2.2. Cuellos de botella

Es posible que los huracanes que impactaron la isla en 2005 hayan tenido efectos sobre el tamaño poblacional. Las poblaciones que han tenido reducciones drásticas y/o relativamente recientes están sujetas a diversos cambios: se incrementa la probabilidad de identidad por descendencia y el efecto de factores estocásticos como la deriva génica, y hay pérdida significativa de variación genética. En este sentido, dado que los alelos se pierden más rápido (diversidad alélica) que la heterocigosidad, la heterocigosidad tiende a ser mayor que la esperada a partir del número de alelos observados, siempre y cuando exista un equilibrio entre la deriva y la mutación en los loci analizados (Cornuet y Luikart, 1997).

Para determinar si las poblaciones atravesaron por un cuello de botella se utilizó el programa BOTTLENECK 1.2.02 (Cornuet y Luikart, 1997); la heterocigosidad observada y esperada se basaron en el modelo de mutación de dos fases (TPM), asumiendo que el 90% de las mutaciones seguían un modelo SMM (mutación paso a paso) y un 10% un modelo IAM (alelos infinitos). De igual forma se emplearon los valores que venían por defecto en el programa (70% SMM, 30% IAM y varianza de 10%), ambos con 10000 réplicas. Para determinar si había exceso significativo de heterocigos se utilizó la prueba de Wilcoxon, ya que ésta tiene un mayor poder estadístico cuando hay pocos loci (10 o menos) y es independiente del tamaño de la muestra (Cornuet y Luikart, 1997)

Para evaluar la historia demográfica más probable de la población se utilizó el programa MSVAR V.1.3 (Beaumont, 1999; Storz y Beaumont, 2002), el cual se basa en un modelo jerárquico Bayesiano con simulaciones MCMC (*Markov chain Monte Carlo*) para estimar la distribución *a posteriori* de parámetros genealógicos y demográficos, mediante un análisis de coalescencia de la variación. Con este análisis se obtiene el tamaño más probable para una población actual (i.e., la población puesta a prueba) y para una población ancestral estimada; comparando dichos estimados es posible deducir si han ocurrido eventos de expansión o reducción poblacional. Además, es posible obtener el tiempo (en relación a las generaciones de cada especie) en que estos eventos han ocurrido. Este análisis se realizó para todas las poblaciones (pre y post-huracán) de las dos especies, utilizando las frecuencias alélicas por locus (*infile*), los datos que venían por defecto para el control de las simulaciones (*INTFILE*) y los valores iniciales sugeridos (*init_v_file*), a excepción de las líneas de salida (100000) y las interacciones entre líneas de salida (20000) que fueron modificadas debido a la resolución por el tamaño de la muestra. Cada análisis se realizó por duplicado para verificar una buena coalescencia de los datos. Los tamaños estimados para la población actual y la población ancestral y los intervalos de confianza para la

distribución posterior fueron graficados para determinar el cambio del tamaño poblacional y con ello inferir el cuello de botella. Para estimar la severidad del cuello de botella se obtuvo la proporción de la reducción en el tamaño de la población, mediante $Ne_{Actual}/Ne_{Ancestral}$, reportado como porcentaje.

2.3. Los efectos del cuello de botella

Después del paso de los huracanes se observaron dos respuestas demográficas importantes: una reducción poblacional evidente (reflejada en el éxito de captura de individuos) y el aparente movimiento de individuos a diferentes zonas de la isla (García-Aguilar, 2010). De esta forma, se evaluó si existieron eventos de dispersión y colonización a partir de la composición genética de las especies estimando las de tasas de migración reciente entre localidades de muestreo con el programa BIMr V.1.0 (Faubet y Gaggiotti, 2008). Este programa permite hacer inferencias de proporciones recientes de genes inmigrantes a través de aproximaciones Bayesianas. Un primer paso fue estimar la tasa de migración que ocurría antes de los huracanes, y posteriormente obtener la tasa de migración entre las poblaciones después de éstos. Para el análisis se utilizaron todos los parámetros que venían por defecto en el programa (*Burn in*=10000, Tamaño de la muestra=10000, *Thinning interval*= 50, 3 réplicas).

Asimismo, se evaluó la contribución de las poblaciones pre-huracán a la composición genética de las poblaciones post-huracán, dado que pudieron haber ocurrido eventos de colonización (Gaggiotti et al., 2004) y el movimiento o intercambio de individuos de una población a otra ocasionada por el impacto de los vientos extremadamente fuertes de los huracanes. Con el programa HWLER (Pella y Mesuda, 2001) se estimó la composición genética de cada población post-huracán en relación a las poblaciones pre-huracán. El programa utiliza métodos Bayesianos (*Gibbs and split-merge Markov chain Monte Carlo sampling*) para estimar, en una población dada, la proporción de mezcla a partir de datos genéticos de otras poblaciones de referencia. Además estima si es posible que existan poblaciones "extra" de referencia que no estén representadas en la muestra. Se utilizaron los valores sugeridos para el control del análisis, con un número de muestra final de 65000 (tomando 25000 de estas como *Burnin-period*), con tres repeticiones para verificar la consistencia de los resultados. Cada población post-huracán se trabajó independiente como una "población mezcla" (*mixture population*) y las poblaciones pre-huracán como "posibles poblaciones fuente" (*potential source populations*) y se permitió que el programa estimara la existencia de poblaciones de referencia sin muestras (*extra-baseline populations*).

RESULTADOS

Oryzomys couesi cozumelae

1. Muestreo y éxito de captura

De septiembre de 2005 a mayo de 2007 se capturaron 85 individuos, de cuales 47 fueron machos, 34 hembras y a cuatro no se les pudo determinar el sexo. Con fines comparativos se retomaron los genotipos obtenidos en el estudio de García- Aguilar (2010) para los análisis del presente trabajo. Durante el muestreo del año 2011, se tuvo un esfuerzo de muestreo total de 4337 trampas/noche, y un éxito de captura del 0.23%, es decir, se capturaron 10 individuos, que conformaron la población “2011”.

2. Presencia de alelos nulos

Los análisis mostraron que no hubo errores de lectura, de dominancia corta en los alelos, errores tipográficos, ni alelos nulos para ningún locus en las poblaciones pre-huracán y 2011. Ningún loci mostró valores de F_{IS} significativamente diferentes aun cuando se observaron alelos nulos en el locus Ory64.

3. Definición de subgrupos

Como se había ya observado, se obtuvo un único grupo o cluster ($\text{LnP}(K) = -2471.3$) para la población pre-huracán. De la misma manera, también se observó una única población para los individuos post-huracán ($\text{LnP}(K) = -2650.1$) y para los individuos 2011 ($\text{LnP}(K) = -270$). Se realizó un segundo análisis de STRUCTURE para determinar si existían cambios a través del tiempo (pre-huracán, post-huracán y 2011) y se encontraron dos poblaciones ($\text{LnP}(K) = -5783.3$), la primera formada por las poblaciones pre-huracán y 2011 (con el 94.7% y 90% de individuos asignados correctamente) y la segunda por la población post-huracán (con el 89.4% de individuos asignados correctamente) (Fig. 1). Las probabilidades de pertenencia a uno de los dos grupos fueron de 91.6% para la población pre-huracán, 87.8% para la población post-huracán y 89.9% para la población 2011. Esto indica que la composición genética de la población 2011 es más parecida a la de la población pre-huracán, y hubo cambios significativos en la población post-huracán.

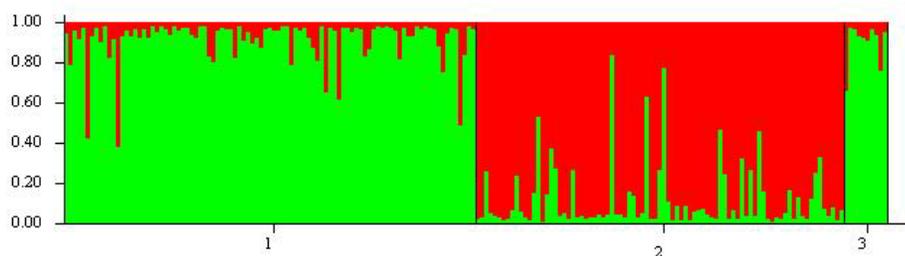


Fig 1. Gráfico de la asignación de individuos para *O. c. cozumelae* por población en tres tiempos, obtenido de STRUCTURE. En el eje 'x' se señalan las poblaciones puestas a prueba: población pre-huracán= 1, población post-huracán= 2 y 2011= 3. El eje 'y' representa el porcentaje de pertenencia y los colores los grupos detectados: verde=cluster 1; rojo=cluster 2.

4. Equilibrio Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento

Los coeficientes de fijación F_{IS} variaron entre 0.16 (ORY10, 2011) y -0.19 (ORY16, post-huracán). Sólo la población post-huracán presentó un exceso significativo de heterocigotos para dos loci (ORY16 y ORY60), y una deficiencia para otros dos (ORY40 y ORY64; Cuadro 1), incluso después de realizar la corrección de Bonferroni. Al comparar los coeficientes de fijación entre poblaciones no se encontró ninguna diferencia significativa entre ninguna población ($P=0.8135$; $\alpha=0.05$).

Cuadro 1. Coeficientes de fijación (F_{IS}) y valores de probabilidad (P) de Weir y Crockerham para cada locus de *O. c. cozumelae*, obtenidos con GENEPOP. (Se resaltan en negritas los valores significativos ($*p<0.05$ con corrección de Bonferroni)).

LOCUS	Pre-huracán		Post-huracán		2011	
	F_{IS}	P	F_{IS}	P	F_{IS}	P
ORY03	0.1001	0.0752	-0.1611	0.1513	0.0597	0.1005
ORY10	-0.0971	0.2922	-0.0589	0.0554	0.16	0.5099
ORY16	-0.088	0.1201	-0.1954	0.0001*	-0.1489	0.4727
ORY21	0.057	0.1262	0.0235	0.0544	-0.125	0.9257
ORY28	0.0354	0.1136	0.048	0.0211	0.0597	0.0906
ORY40	-0.0529	0.6122	0.0835	0.0006*	-0.0667	0.8170
ORY60	-0.1076	0.4262	-0.1427	0.0006*	0.0382	0.5050
ORY64	0.0203	0.0378	0.1765	0*	-0.2101	0.4212
ORY26	-0.0492	0.009	-0.1339	0.0214	0.0769	0.4808

Sólo el par de loci Ory03/Ory28 presentó desequilibrio de ligamiento significativo ($p<0.05$ con corrección de Bonferroni) para la población pre-huracán.

5. Diversidad genética

El número de alelos observados fue de entre siete (ORY28 y ORY26) y 14 (ORY10) para la población pre-huracán, entre cinco (ORY03) y 17 (ORY10) para la post-huracán y entre cuatro (ORY26) y ocho (ORY21) para la población 2011. La heterocigosidad observada en promedio varió de 0.700 a 0.770 entre poblaciones, con un rango de 0.27 y 1 entre locus (Cuadro 2 y Anexo 11). Se compararon todos los valores de diversidad obtenidos entre poblaciones con un análisis de varianza (ANOVA) y sólo se observaron diferencias significativas en el número de alelos observados entre la población 2011 con las otras dos poblaciones ($P=0.0005$).

Cuadro 2. Valores promedio de diversidad genética de O. c. cozumelae obtenidos con GENEPOP. (N=tamaño de muestra, n_a = alelos observados, n_e = alelos efectivos, H_o =heterocigosidad observada, H_e =heterocigosidad esperada, H_{NEI} =heterocigosidad esperada de Nei, D.E.= Desviación estándar)

	N		n_a	n_e	H_o	H_e	H_{NEI}
Pre-huracán	95	Media	9.8889	4.2115	0.7041	0.6890	0.6927
		D.E.	2.5712	2.0541	0.2098	0.1916	0.1927
Post-huracán	85	Media	10.5556	4.3875	0.7726	0.7417	0.7461
		D.E.	3.3953	1.6897	0.1190	0.0944	0.0949
2011	10	Media	5.7778	3.6963	0.7444	0.6939	0.7710
		D.E.	1.2019	1.3780	0.1667	0.1228	0.1364

6. Frecuencias alélicas, genotípicas y diferenciación

Se obtuvieron un total de 89 alelos para la población pre-huracán, 95 alelos para la población post-huracán y 52 alelos para la población 2011 (Ver Anexo 6). Se observa la presencia de nuevos alelos en la población post-huracán y una marcada reducción en el total de alelos para la población 2011. El análisis de diferenciación alélica mostró que hay cambios en la distribución de las frecuencias entre poblaciones para varios loci ($p < 0.05$ con corrección de Bonferroni); tomando en cuenta todos los loci la distribución de frecuencias no es homogénea entre todos los pares de poblaciones y la diferenciación es altamente significativa (Cuadro 3).

Cuadro 3. Valores de probabilidad (P) y error estándar (E.E) sobre la diferenciación alélica y genotípica por locus entre las poblaciones pre-huracán, post-huracán y 2011 de *O. c. cozumelae*.(Se resaltan en negritas los valores significativos ($*p < 0.05$ con corrección de Bonferroni)).

Diferenciación alélica						
Locus	Comparaciones					
	Pre y Post		Pre y 2011		Post y 2011	
	P	E.E	P	E.E	P	E.E
ORY03	0*	0	0.7145	0.0028	0.003*	0.0002
ORY10	0.0493	0.0020	0.00001*	0.00001	0.0087	0.0007
ORY16	0.007	0.0005	0.5284	0.0035	0.0846	0.0018
ORY21	0.3191	0.0051	0.8031	0.0023	0.8147	0.0021
ORY28	0.0002*	0.0001	0.8412	0.0011	0.2724	0.0029
ORY40	0.0047*	0.0003	0.0366	0.0008	0.0763	0.0013
ORY60	0.3442	0.0039	0.5189	0.0025	0.5296	0.0024
ORY64	0*	0	0.7087	0.0021	0*	0
ORY26	0*	0	0.1484	0.0015	0*	0
Todos los loci	<0.0001*		0.0037*		<0.0001*	
Diferenciación genotípica						
Locus	Comparaciones					
	Pre y Post		Pre y 2011		Post y 2011	
	P	E.E	P	E.E	P	E.E
ORY03	0*	0	0.7561	0.0026	0.0016*	0.0001
ORY10	0.0394	0.0013	0.00001*	0.00001	0.0121	0.0007
ORY16	0.0068	0.0005	0.4684	0.0035	0.0798	0.0018
ORY21	0.4452	0.0043	0.8181	0.0027	0.8312	0.0024
ORY28	0.0009*	0.0002	0.8430	0.0019	0.3284	0.0033
ORY40	0.0079	0.0005	0.0381	0.0013	0.1040	0.0020
ORY60	0.3012	0.0041	0.4738	0.0034	0.4708	0.0032
ORY64	0*	0	0.7218	0.0033	0*	0
ORY26	0*	0	0.1412	0.0019	0*	0
Todos los loci	<0.0001*		0.003973*		<0.0001*	

Se obtuvieron un total de 304 genotipos, de los cuales 203 se encontraron en la población pre-huracán, 202 en la post-huracán y 61 para la de 2011 (Ver Anexo 7). Cuando se consideraron todos los loci, el número de homocigos varió entre uno (ORY26) y seis (ORY21) para la población pre-huracán, entre dos (ORY03 y ORY26) y seis (ORY21) para la pre-huracán, y entre cero (ORY21) y tres (ORY10) para 2011. En promedio se obtuvo menos del 20% de homocigos de la población en conjunto (Cuadro 4). El análisis de diferenciación genotípica entre pares de poblaciones mostró cambios en la distribución de las frecuencias entre poblaciones ($p < 0.05$ con corrección de Bonferroni). Tomando en cuenta todos los loci, la diferenciación de la población post-huracán fue altamente significativa (Cuadro 3).

Cuadro 4. Porcentaje de genotipos homocigos por locus para cada población de *O. c. cozumelae*.

	Pre-huracán	Post-huracán	2011
ORY03	22.22	22.22	16.67
ORY10	6.06	12.12	30
ORY16	12	15.79	16.67
ORY21	15	18.92	0
ORY28	25	28.57	16.67
ORY40	25	20	12.5
ORY60	16.67	12	14.29
ORY64	23.53	24.14	20
ORY26	12.5	12.5	25
Media	17.55	18.47	16.87

7. Tamaño efectivo de la población y parentesco

Para la población pre-huracán se estimó un tamaño efectivo de 133.2 individuos (con un intervalo de confianza al 95% de [106.3-174.3]); para la población post-huracán de 264.2 individuos ([179.7-471.7]) y para la población 2011, 9.9 individuos ([7.4-14.2]), todos con base en el cálculo de desequilibrio de ligamiento. Tomando en cuenta las tres poblaciones y considerando un análisis basado en tiempos generacionales, se obtuvo un N_e de 1165.3 individuos ([43.3- ∞]) para la especie.

La prueba de parentesco mostró que la mayoría de los individuos (>80% del total) en cada población no tienen relaciones cercanas de parentesco; además no se encontraron medios hermanos para la población 2011 (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de parentesco obtenido de *ML_RELATE* para las poblaciones pre-huracán, post-huracán y 2011 de *O. c. cozumelae*.

Parentesco	Pre-huracán	Post-huracán	2011
Padres e hijos	2.4	1.04	6.67
Hermanos	2.28	2.13	4.44
Medios hermanos	15.25	12.77	0
Sin parentesco cercano	80.07	84.06	88.89

8. Cuellos de botella

Con el programa Bottleneck sólo se encontró señal de un probable cuello de botella para la población post-huracán ($P < 0.05$) detectado por un exceso de heterocigosis bajo el modelo IAM (Cuadro 6).

Cuadro 6. Valores de probabilidad (P) de exceso de heterocigosis para las poblaciones de O. c. cozumelae calculados con BOTTLENECK bajo los diferentes modelos de mutación establecidos. En negritas se resalta el valor significativo ($p < 0.05$ con corrección de Bonferroni). Abreviaturas: IAM=Modelo de mutación de alelos infinitos, SMM= Modelo de mutación paso a paso, TPM=Modelo de mutación de dos fases.*

	Pre-huracán	Post-huracán	2011
Modelo de mutación	P	P	P
IAM	0.1797	0.0049*	0.2129
SMM	0.9990	1.0000	0.9815
TPM (70% SMM)	0.8750	0.8496	0.5898
TPM (90% SMM)	0.9932	0.9971	0.8203

Los resultados para determinar el tamaño más probable de las poblaciones, y con ello deducir procesos de expansión o decremento en relación a una población ancestral no mostraron la ocurrencia de cuellos de botella en ninguna población (Fig. 2 y Cuadro 7).

Cuadro 7. Cálculo del tamaño de la población más probable con MSVAR para la estimación de cuellos de botella en las poblaciones de O. c. cozumelae. Se compara un estimado del tamaño de la población actual con valores esperados para una población ancestral. (D.E.=desviación estándar).

	Población	Media	D.E.	Intervalos de confianza
Pre-huracán	Actual	4.1135	0.6748	[3.0843 - 5.8114]
	Ancestral	4.385	0.6277	[3.2581 - 5.8089]
Post-huracán	Actual	3.9975	0.5242	[3.2814 - 4.6132]
	Ancestral	4.308	1.1692	[2.3374 - 7.2142]
2011	Actual	4.1025	1.131	[1.8297 - 6.8519]
	Ancestral	4.4295	1.324	[1.7559 - 7.7501]

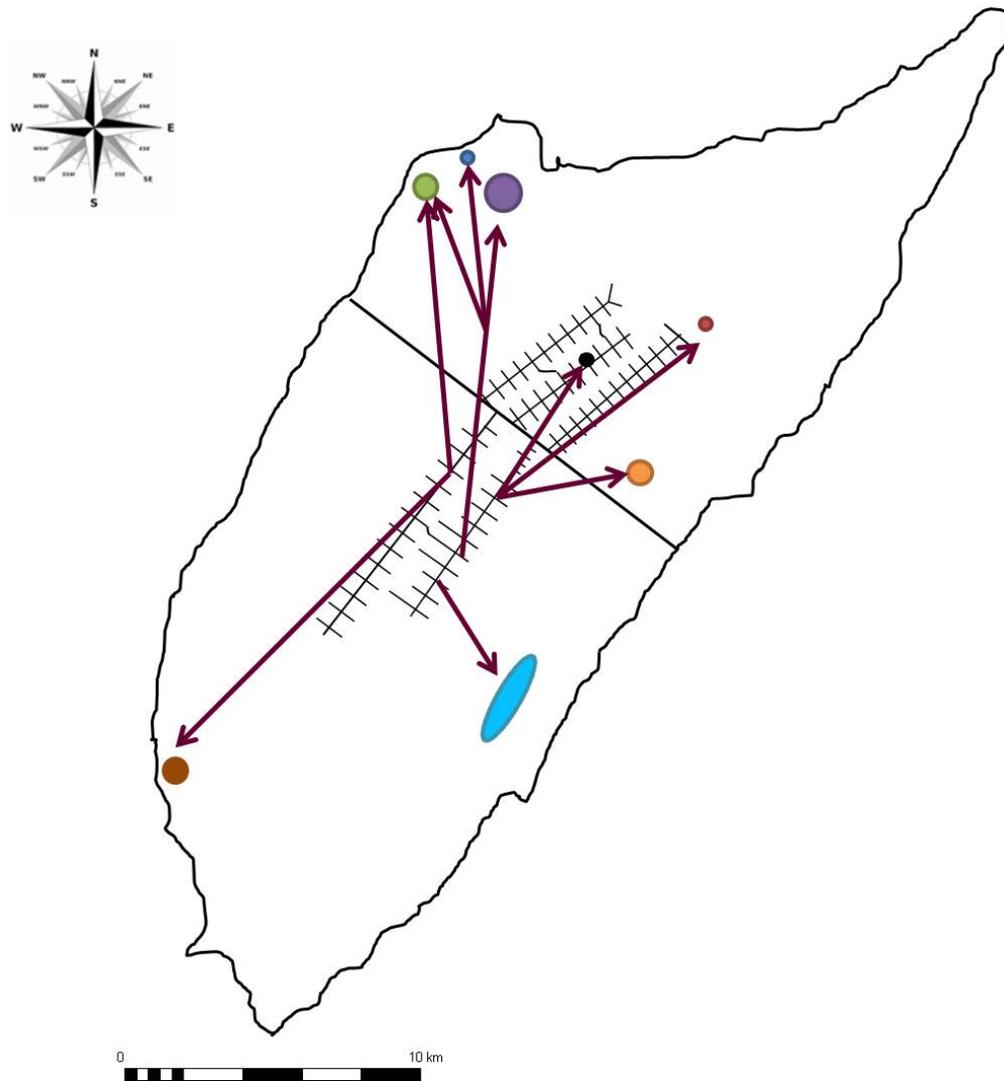


Fig. 3. Representación gráfica del aporte genético entre las poblaciones por localidad de muestreo de las poblaciones pre-huracán a las poblaciones post-huracán de O. c. cozumelae. Las flechas representan el flujo de genes y los círculos de colores los localidades de muestreo de las post-huracán.

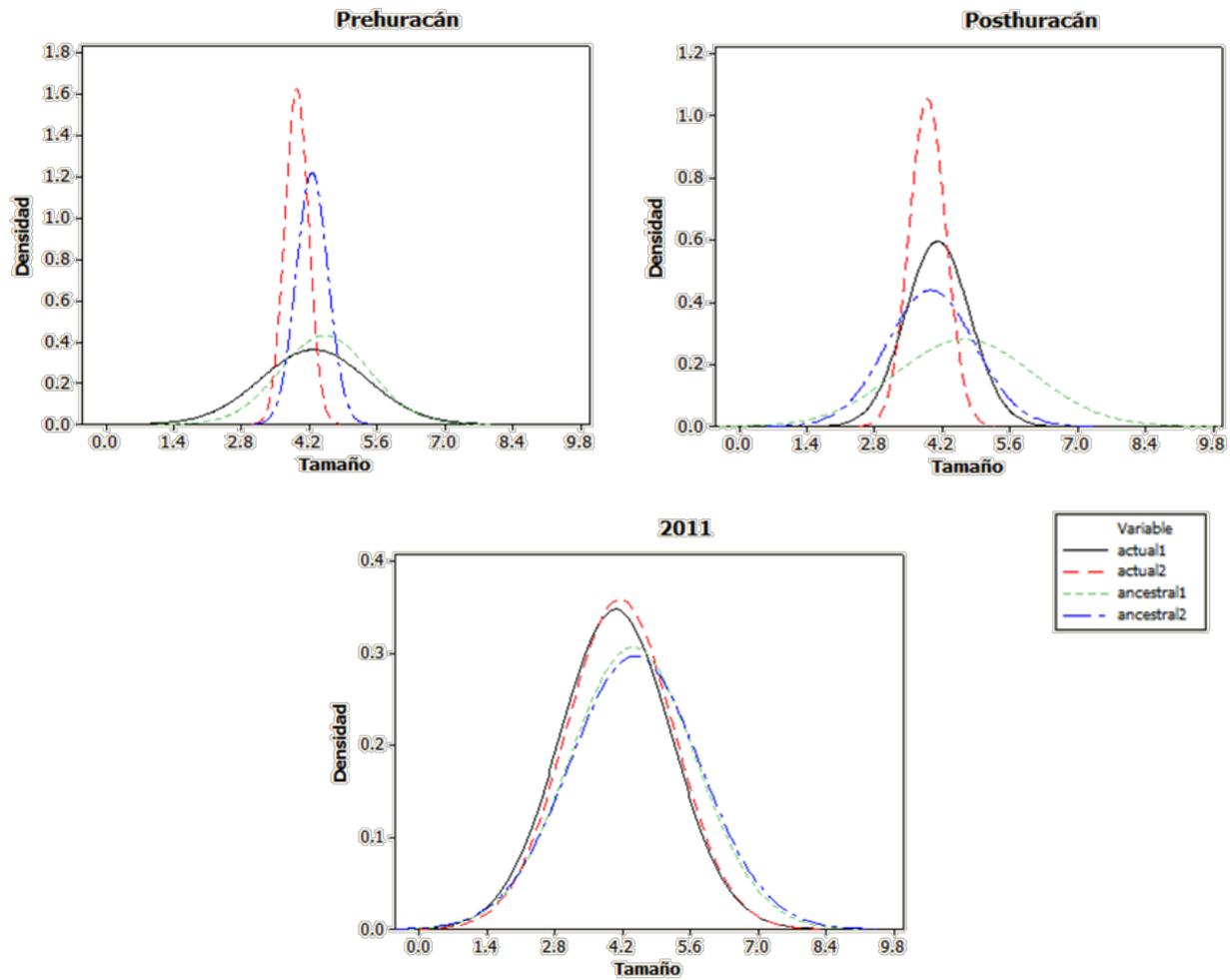


Fig. 2. Gráficos de la estimación del tamaño de la población más probable para las poblaciones de *O. c. cozumelae*. El eje x corresponde a los tamaños de la población estimados y el eje y a la densidad de los datos obtenidos. Se comparan los valores actuales respecto a los tamaños ancestrales. Los modelos incluyen el resultado de dos simulaciones independientes para corroborar los resultados.

9. Efectos del cuello de botella

En campo se observó una marcada reducción en la densidad de la población de este roedor. Lo más evidente fue el éxito de captura casi nulo dentro de los ejes de CAPA y la captura de individuos en nuevos sitios, lo que podría sugerir un movimiento asociado a los estragos que causaron los huracanes. Utilizando el programa Hwler se estimó que los sitios de CAPA, en los ejes 5.3, 5.5, 4.2, 4.6 y 4.8 fueron las que más aportaron genéticamente a las poblaciones post-huracán (Figura 3 y Cuadro 8).

Cuadro 8. Porcentaje de aporte genético de las poblaciones pre-huracán a las poblaciones post-huracán de *O. c. cozumelae* (por localidad de muestreo). Valores estimados con el programa Hwler; se resaltan en negritas los porcentajes más altos. (D.E.=desviación estándar).

		Post-huracán													
		Mezcalitos		Potabilizadora		Palancar		Manglar		Este		Golf		Noreste	
		Media %	D.E	Media %	D.E	Media %	D.E	Media %	D.E	Media %	D.E	Media %	D.E	Media %	D.E
Pre-huracán	CAPA 5.3	4.64	0.1541	2.09	0.1156	99.97	0.0098	19.68	0.1665	1.09	0.0675	0.00	0.0030	16.00	0.3181
	CAPA 5.5	0.01	0.0049	0.10	0.0195	0.00	0.0001	41.34	0.2908	0.00	0.0001	0.00	0.0014	0.02	0.0059
	CAPA 5.7	0.02	0.0060	0.73	0.0219	0.00	0.0037	0.01	0.0027	0.00	0.0008	0.00	0.0005	0.00	0.0017
	CAPA 5.9	0.01	0.0032	1.39	0.0332	0.00	0.0009	0.00	0.0005	0.00	0.0015	0.00	0.0005	0.17	0.0267
	CAPA 4.2	94.45	0.1750	0.47	0.0482	0.00	0.0006	18.19	0.1653	0.00	0.0020	1.34	0.0968	72.55	0.4296
	CAPA 4.4	0.02	0.0057	20.76	0.3077	0.00	0.0006	16.50	0.2811	0.00	0.0003	0.01	0.0053	0.09	0.0146
	CAPA 4.6	0.12	0.0189	71.34	0.3362	0.00	0.0027	4.21	0.1112	95.24	0.2060	47.31	0.4795	0.00	0.0018
	CAPA 4.8	0.00	0.0014	0.01	0.0020	0.00	0.0002	0.00	0.0007	0.00	0.0006	51.33	0.4778	2.09	0.1094
	MANGLAR	0.01	0.0041	0.01	0.0018	0.00	0.0000	0.00	0.0000	0.00	0.0001	0.00	0.0003	0.90	0.0540
	MEZCALITOS	0.00	0.0013	0.02	0.0032	0.00	0.0000	0.02	0.0022	0.23	0.0415	0.00	0.0003	2.23	0.1190
	EXTRA-POP	0.71	0.0389	3.08	0.0558	0.02	0.0080	0.05	0.0169	3.43	0.1794	0.02	0.0072	5.95	0.2207

Reithrodontomys spectabilis

1. Muestreo y éxito de captura

Después de los huracanes del 2005 y con el mismo esfuerzo de captura que para *O. c. cozumelae*, sólo se capturaron 11 individuos durante el 2006, todos provenientes de un localidad de muestreo: Potabilizadora. Durante el muestreo de 2011 sólo se logró capturar un individuo (hembra) en CAPA. Por lo anterior, se decidió juntar los 12 individuos en una sola población –post-huracán– para los análisis comparativos. Para facilitar estas comparaciones se utilizaron poblaciones equivalentes en tamaño y localización geográfica, así los análisis se realizaron con los 12 individuos post-huracán y con 25 individuos provenientes del sitio Potabilizadora del muestreo pre-huracán (Capítulo 2).

2. Presencia de alelos nulos

Igual que lo observado para las poblaciones pre-huracán (Capítulo 2), para la población post-huracán se detectó la presencia de alelos nulos en el locus mexR32, por lo que fue eliminado de los análisis posteriores.

3. Definición de subgrupos

Los análisis de STRUCTURE mostraron una única población en los individuos post-huracán ($\text{LnP}(K) = -412.6$) y en el total de los individuos capturados (pre y post-huracán) ($\text{LnP}(K) = -929.4$). Sugiriendo que no hay cambios en la composición genética a través del tiempo.

4. Equilibrio Hardy-Weinberg

Los coeficientes de fijación F_{IS} mostraron valores de entre 0.1239 (mexr22) y -0.0377 (mexr13), sin ningún valor significativamente diferente de lo esperado en equilibrio H-W (Cuadro 9). Al comparar los coeficientes de fijación con la población pre-huracán no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($t = 0.081$, $p = 0.936$, $\alpha = 0.05$).

Cuadro 9. Coeficiente de fijación (F_{IS}) y valores de probabilidad (P) de Weir y Cockerham para cada locus de la población post-huracán de *R. spectabilis* (* $p < 0.05$ con corrección de Bonferroni). Se resalta en gris el locus con presencia de alelos nulos.

Locus	F_{IS}	P
mexr16	0.0435	0.9603
mexr19	-0.1528	0.951
mexr20	0.0598	0.5133
mexr22	0.1239	0.2568
mexr23	-0.0476	1
mexr12	-0.0661	0.8371
mexr32	0.8804	0
mexr33	-0.0577	0.1715
mexr34	-0.1748	0.8968
mexr13	-0.0377	0.8551

5. Desequilibrio de ligamiento (DL)

Se observaron cuatro pares de loci en desequilibrio de ligamiento ($p < 0.05$ significativo después de la corrección de Bonferroni): mexr19/mexr20, mexr20/mexr22, mexr20, mexr12 y mexr13/mexr33 (Cuadro 10), los cuales no habían presentado desequilibrio en la población pre-huracán.

6. Diversidad genética

Para la población post-huracán el número de alelos (na) fue de entre dos (mexr23) y 10 (mexr20), y con un número efectivo (ne) de entre 1.17 (mexr23) y 6.537 (mexr20). La heterocigosidad observada varió entre 0.1667

(mexr23) y 1 (mexr19), mientras que los valores para la H_e y la H_{NEI} variaron de 0.152 y 0.158, a 0.847 y 0.883, respectivamente (Cuadro 11). Al comparar con la población pre-huracán no se encontró ninguna diferencia significativa para ninguno de los valores de diversidad obtenidos ($t=2.02$, $p>0.05$, $\alpha=0.05$).

Cuadro 10. Valores de probabilidad (P) y desviación estándar (D.E.) obtenidos de la prueba de desequilibrio de ligamiento con GENEPOP para todas las combinaciones posibles de loci de la población post-huracán de *R. spectabilis* (En negritas se resaltan los valores significativos * $p<0.05$ después de efectuar la corrección de Bonferroni).

Pares de loci		P	D.E.
mexr16	mexr19	Sin datos	
mexr16	mexr20	Sin datos	
mexr19	mexr20	0.02371*	0.0081
mexr16	mexr22	Sin datos	
mexr19	mexr22	0.082085	0.0135
mexr20	mexr22	0.027575*	0.0086
mexr16	mexr23	Sin datos	
mexr19	mexr23	0.9447	0.0025
mexr20	mexr23	0.6903	0.0058
mexr22	mexr23	0.4575	0.0055
mexr16	mexr12	Sin datos	
mexr19	mexr12	0.0594	0.0112
mexr20	mexr12	0.0276*	0.0083
mexr22	mexr12	0.0686	0.0139
mexr23	mexr12	0.4498	0.0056
mexr16	mexr33	Sin datos	
mexr19	mexr33	0.2467	0.0175
mexr20	mexr33	0.0864	0.0115
mexr22	mexr33	0.2410	0.0183
mexr23	mexr33	0.1195	0.0026
mexr12	mexr33	0.0105*	0.0025
mexr16	mexr34	Sin datos	
mexr19	mexr34	0.1098	0.0134
mexr20	mexr34	0.0601	0.0119
mexr22	mexr34	0.1223	0.0168
mexr23	mexr34	0.3276	0.0050
mexr12	mexr34	0.1410	0.0164
mexr33	mexr34	0.4596	0.0186
mexr16	mexr13	Sin datos	
mexr19	mexr13	0.1086	0.0163
mexr20	mexr13	0.0542	0.0118
mexr22	mexr13	0.0806	0.0140
mexr23	mexr13	0.5397	0.0076
mexr12	mexr13	0.0665	0.0119
mexr33	mexr13	0.3293	0.0207
mexr34	mexr13	0.1343	0.0160

Cuadro 11. Valores de diversidad genética de *R. spectabilis* por locus para la población post-huracán. En negritas se resaltan los valores promedio. (N =tamaño de muestra, n_o =alelos observados, n_e =alelos efectivos, H_o =heterocigosidad observada, H_e =heterocigosidad esperada, H_{NEI} =heterocigosidad esperada de Nei).

Locus	N	n_o	n_e	H_o	H_e	H_{NEI}
mexr16		7	6.0210	0.8333	0.8339	0.8702
mexr19		9	6.1266	1	0.8368	0.8732
mexr20		10	6.5371	0.8333	0.8470	0.8839
mexr22		9	5.4282	0.75	0.8158	0.8512
mexr23	12	2	1.1796	0.1667	0.1522	0.1588
mexr12		7	5.7618	0.9167	0.8264	0.8624
mexr33		6	4.1077	0.8333	0.7566	0.7894
mexr34		8	4.0531	0.9167	0.7533	0.7860
mexr13		7	4.3652	0.8333	0.7709	0.8044
Media		7.22	4.8423	0.7870	0.7325	0.7644

7. Frecuencias alélicas y genotípicas

Se obtuvieron un total de 65 alelos entre los nueve loci para la población post-huracán, con un porcentaje de similitud con la población pre-huracán de 78.5%. La riqueza alélica varió entre dos y 10 alelos (Ver Anexo 8). Aun cuando no se observan cambios significativos en las frecuencias alélicas respecto a la población pre-huracán en ningún locus ($t=2.77$, $p>0.05$, $\alpha=0.05$), es importante mencionar que se perdieron algunos alelos y se ganaron otros. Por ejemplo, para el locus mexr19 se perdieron tres alelos y se ganó uno, o en el caso de mexr13 que se perdieron 2 alelos que eran exclusivos pero se ganó uno que no se había observado en la población pre-huracán (ver Anexo 8).

En cuanto a los genotipos, se obtuvieron un total de 85 entre los 9 loci. (ver Anexo 9). Se observaron diferencias significativas al comparar los genotipos con la población pre-huracán ($t=-2.948$, $p=0.009$, $\alpha=0.05$), debido a una pérdida en el número de genotipos observados.

8. Diferenciación

Al comparar las poblaciones pre y post-huracán con una prueba exacta de G, en relación a la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas, no se encontraron cambios significativos para ningún locus ni para los loci en su conjunto (ver Anexo 10).

9. Tamaño efectivo de la población y parentesco

Se estimó un N_e de 15.8 individuos (con un intervalo de confianza al 95% de [11.8-22.7]) mediante el cálculo por desequilibrio de ligamiento para la población post-huracán, mientras que para la pre-huracán se había estimado un N_e de 190.4 individuos ([87-infinito]). El análisis de parentesco mostró que el 90% de los individuos de la población post-huracán no están cercanamente relacionados, el 6.7% tienen una relación padre-hijo, el 1.7% son hermanos completos y el resto (1.6%) son medios hermanos.

10. Cuellos de botella

Con el programa BOTTLENECK se detectó un exceso de heterocigosis para las poblaciones pre-huracán y post-huracán con el modelo IAM; y para la población pre-huracán con el modelo TPM con un 70% de SMM (Cuadro 12).

*Cuadro 12. Valores de probabilidad (P) de exceso de heterocigosis para las poblaciones de R. spectabilis calculados con BOTTLENECK bajo los diferentes modelos de mutación establecidos (Se resaltan en negritas los valores significativos * $p < 0.05$ después de la corrección de Bonferroni). Abreviaturas: IAM=Modelo de mutación de alelos infinitos, SMM= Modelo de mutación paso a paso, TPM=Modelo de mutación de dos fases.*

	Pre-huracán	Post-huracán
Modelo de mutación	<i>P</i>	<i>P</i>
IAM	0.0010*	0.0186*
SMM	0.9815	0.7520
TPM (70% SMM)	0.0049*	0.2481
TPM (90% SMM)	0.2852	0.6328

Con el programa MSVAR 1.3 se estimaron los tamaños poblacionales más probables de la población post-huracán. Se realizó una segunda prueba para evaluar cómo se describían los procesos demográficos para la población pre-huracán. Se encontró un cuello de botella en la población post-huracán, con una reducción del 20.87% en la población actual (Fig. 4 y Cuadro 13).

Cuadro 13. Cálculo del tamaño más probable de la población con MSVAR para la estimación de cuellos de botella en las poblaciones de R. spectabilis. Se compara un estimado del tamaño de la población actual con valores esperados para una población ancestral. (D.E.=desviación estándar).

		Media	D.E.	Intervalos de confianza
Pre-huracán	Actual	4.2825	0.6953	[2.8331 - 5.5959]
	Ancestral	4.6525	0.5362	[3.8476 - 5.6469]
Post-huracán	Actual	3.8775	0.4596	[2.9491 - 4.7145]
	Ancestral	4.9005	0.7147	[3.6674 - 6.3480]

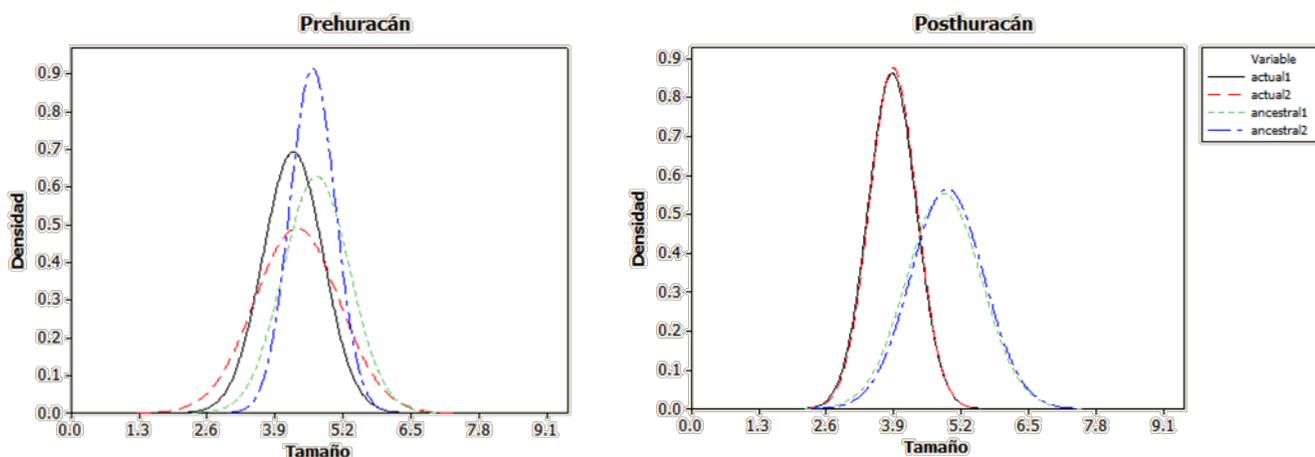


Fig. 4. Representación gráfica de la estimación del tamaño de la población más probable para las poblaciones de *R. spectabilis*. Se comparan los tamaños estimados (eje x) entre los valores actuales y los tamaños ancestrales.

11. Efectos del cuello de botella

Con el programa HWLER se estimó la composición genética de la población post-huracán, tomando como poblaciones de referencia las siete poblaciones pre-huracán, con el fin de detectar, en caso de presentarse, el aporte de otras poblaciones a la población remanente. El 99% corresponde a la población cuyo localidad de muestreo es ‘Potabilizadora’, mientras que el resto se reparte entre Manglar, Mezcalitos y una probable población extra (Cuadro 14).

Cuadro 14. Composición alélica de la población post-huracán, en relación a los genotipos observados en las poblaciones pre-huracán de *R. spectabilis*. Datos obtenidos de HWLER. En negritas se resalta el mayor porcentaje. (D.E.=Desviación estándar).

Localidad	Media	D.E.
CAPA 4.4	0.0000	0.0001
CAPA 4.8	0.0000	0.0005
Manglar	0.0001	0.0083
Mezcalitos	0.0015	0.0111
Palmas	0.0000	0.0019
Potabilizadora	0.9953	0.0331
Pob. Extra	0.0031	0.0248

DISCUSIÓN

La ocurrencia de huracanes en ecosistemas insulares puede causar profundos estragos que pueden reflejarse tanto en el aumento de mortalidad de individuos, como en respuestas fisiológicas y/o de conducta que se generan con el fin de reducir los efectos negativos asociados a la perturbación. En este trabajo, el primero en su tipo, se aborda desde un enfoque genético las consecuencias que tuvieron los huracanes Emily y Wilma sobre las poblaciones de los roedores que habitan Isla Cozumel.

El efecto de los huracanes: cada especie tiene su historia que contar

En este estudio observamos dos respuestas, completamente distintas, de los roedores de Isla Cozumel, después de los huracanes Emily y Wilma, las cuales podrían estar asociadas a las características genéticas y ecológicas que presentaban previo a los huracanes (Capítulo 3), así como a las variaciones espacio temporales de la disponibilidad de alimento y refugio después de éstos, las cuales ya se ha visto que pueden afectar la dinámica de poblaciones de pequeños mamíferos (Russell y Ruffino, 2012).

La evidencia más clara de los estragos de los huracanes sobre los roedores, fue la disminución en el tamaño de las poblaciones, pues el éxito de captura disminuyó notablemente (García-Aguilar, 2010) e incluso el bajo éxito continuó hasta años posteriores (*obs. pers.*).

Se detectó un cuello de botella sólo en las poblaciones de *R. spectabilis*, con una reducción de la densidad poblacional aproximada del 20%. Además, no hubo cambios en la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas, pero sí se perdieron varios alelos y genotipos (algunos exclusivos); una señal más de la ocurrencia del cuello de botella genético. El problema de estos efectos es que pueden contribuir de manera significativa en el riesgo de extinción de este roedor, ya que disminuye su habilidad para adaptarse a futuros cambios ambientales. Otros estudios han puesto en evidencia que las disminuciones en el tamaño poblacional generan cuellos de botella genéticos, reflejados en la pérdida de alelos raros, reducción de la heterocigosidad y cambios en la distribución de las frecuencias alélicas (Whang et al., 2005; Shama et al., 2011).

Otra consecuencia de la presencia de un cuello de botella es la diferenciación genética, sobre todo en aquellas poblaciones que ya de principio presentan estructura genética. En el caso de *R. spectabilis*, cuyas poblaciones se encontraban estructuradas (Capítulo 3) y en donde se apreciaba un efecto de aislamiento por distancia, es posible que después de los huracanes se observara una mayor diferenciación. Desafortunadamente, la pérdida de individuos fue de tal grado, que después de los huracanes sólo se contó con el registro de la población denominada “Potabilizadora”, en el norte de la isla, por lo que no fue posible comprobar tal supuesto. Se piensa que al disminuir el tamaño de las poblaciones, la deriva génica puede actuar a un ritmo más acelerado. Además, tras extinciones locales se necesita una recolonización rápida y con un elevado número de individuos para poder igualar las frecuencias génicas, o de lo contrario se favorecería la

diferenciación de nuevos grupos (Shama, et al., 2011); sin embargo, existen pocos estudios que evalúen el efecto de disminución del tamaño poblacional sobre la diferenciación genética. En éstos, la diferenciación genética se hace evidente debido a cambios históricos en los tamaños poblacionales (*Alouatta palliata*, Milton y Lozier, 2009), reducciones abruptas después de eventos extremos (*Allogamus uncatatus*, Shama, et al., 2011) o por reducciones asociadas a caserías y fragmentación de hábitat (*Loxodonta africana africana*, Whitehouse y Harley, 2001); y al parecer, una lenta recuperación del tamaño poblacional y la acción de la deriva génica son los principales factores que influyen la diferenciación entre sus poblaciones.

La presencia de desequilibrio de ligamiento en algunos pares de loci en *R. spectabilis* puede ser otra señal del cuello de botella que sufrieron las poblaciones, ya que antes de los huracanes se habían observado dos pares de loci en desequilibrio, número que aumentó a cuatro pares en la población post-huracán. Se sabe que las fluctuaciones estocásticas en poblaciones pequeñas pueden generar asociaciones no aleatorias entre alelos de diferentes loci, debido a la acción de procesos como deriva génica y endogamia en las poblaciones remanentes (Hedrick, 2005; Slatkin, 2008). Esta correlación entre desequilibrio de ligamiento y cuellos de botella se ha observado en otras poblaciones silvestres y domesticadas de perros (Gray et al., 2009) y ratones silvestres (Laurie et al., 2007).

Los datos de *O. c. cozumelae* son contrastantes con los observados para *R. spectabilis*, pues no es posible detectar la evidencia de cuello de botella aún después de una reducción abrupta en el tamaño de la población. Ninguno de los métodos utilizados en este estudio reveló un cuello de botella relacionado con exceso de heterocigosis o disminución en el N_e en esta especie. Probablemente la alta diversidad genética y su distribución homogénea a lo largo de la isla que presentaba este roedor antes de los huracanes pudieran haber generado que los efectos de los huracanes no fueran evidentes. Existen otros trabajos con roedores en los que no se detectó ninguna señal genética de cuello de botella a pesar de que se habían registrado disminuciones poblacionales y que además tenían altos niveles de diversidad genética antes de dichas disminuciones (e.g. *Lemmus lemmus*, Ehrich y Jorde 2005; *Clethrionomys glareolus*, Redeker et al., 2006). Además, se ha observado que factores de historia de vida y el tamaño efectivo pueden borrar dichas señales. Por ejemplo, la rápida expansión poblacional y la capacidad de establecimiento en nuevos sitios favorecieron para que el conejo australiano (*Oryctolagus cuniculus*) mantuviera su diversidad genética y no muestre señales de cuellos de botella después de una reducción significativa en su N_e debida a eventos de traslocación (Zenger et al., 2003). Por otro lado, la inmigración en ardillas (*Spermophilus lateralis*) mantuvo la variación genética durante fluctuaciones del tamaño poblacional debido a cuellos de botella demográficos naturales durante un periodo de 10 años (McEachern et al., 2011). Al igual que en *O. c. cozumelae*, en *Dipodomys spectabilis*, no se detectó pérdida de diversidad genética ni alélica, incluso inmediatamente después de una reducción poblacional registrada luego de la época de apareamiento, probablemente gracias a su capacidad de dispersión (Busch et al., 2007).

Por otro lado, es importante mencionar que en este estudio además de la prueba convencional (con el programa BOTTLENECK) se caracterizó la historia demográfica con métodos bayesianos, que tienen mayor probabilidad de detectar cuellos de botella (Peery et al., 2012), ya que las pruebas comunes para detectar cuellos de botella pueden verse limitadas en su poder estadístico como resultado de un tamaño de muestra pequeño o según los valores que se consideren según el modelo de mutación utilizado, por lo que no siempre es posible detectar cuellos de botella genéticos aún cuando exista evidencia clara de disminuciones demográficas (Peery et al., 2012).

Lo que sí se observó para *O. c. cozumelae* fue el movimiento de los individuos, del centro de la isla (en donde se concentraba la mayor densidad poblacional) hacia la periferia (Cuadro 8 y Figura 3), tal vez en busca de refugio y alimento. Probablemente este movimiento haya sido favorecido por su elevada capacidad de dispersión (Capítulo 3), mismo que podría haber facilitado el flujo génico y con ello diluido las huellas de un cuello de botella.

El efecto más notorio a nivel genético en la población post-huracán de *O. c. cozumelae* fue un cambio en la distribución de las frecuencias alélicas, sin que esto afectara los niveles de diversidad genética que se habían observado. Existen varias posibilidades que pudieron generar dicho cambio: variaciones en los alelos con frecuencias bajas debido a la mortalidad de individuos, la acción de la deriva génica sobre la población remanente, o bien, debido al movimiento de individuos que pudo generar un reacomodo de las frecuencias (Luikart et al., 1998; Ramachandra y Ranjini, 2009).

Resulta relevante además resaltar la importancia del sitio “Potabilizadora”, ya que por una parte es el único lugar donde se observó una población de *R. spectabilis* después del paso de los huracanes, y por otra, el mayor porcentaje de los movimientos de *O. c. cozumelae* fueron hacia esa misma zona. Aun cuando no se cuenta con información que permita definir cuál es su valor ecológico, debe procurarse su conservación, para favorecer el mantenimiento de las poblaciones de roedores. Además, refleja la importancia de proteger otros sitios de la isla y mantenerlos conectados para que los organismos puedan migrar y, de esta forma, se permita la recolonización después de eventos que ocasionen extinciones locales.

No hay que olvidar, además, el rol del azar al determinar las consecuencias genéticas de una disminución poblacional, ya que dichas consecuencias dependen en gran medida de la composición genética previa, y que como azar, es posible que cause estragos adversos (pérdida de diversidad genética, disminución de la adecuación) o beneficie a las poblaciones a través de fluctuaciones temporales en las distribuciones de las frecuencias alélicas (Bouzat, 2010).

Las poblaciones de roedores: ¿se recuperan?

Uno de los objetivos del presente trabajo era evaluar el estado de las poblaciones después de cinco años del paso de los huracanes Emily y Wilma. Un cuello de botella, como cualquier otro proceso estocástico, puede 1) conducir a la extinción de las especies, 2) no causar ningún efecto significativo sobre las poblaciones, o bien 3) favorecer su adecuación y con ello su permanencia (Bouzat, 2010).

Desafortunadamente, el éxito de captura de roedores en la isla durante el 2011 no fue el suficiente para obtener resultados concretos, por lo que dichas observaciones deben ser tomadas con cautela. Sin embargo, en el caso de *O. c. cozumelae* la distribución de las frecuencias alélicas se asemeja más a las encontradas en la población pre-huracán, lo que pudiera sugerir que este ratón fue capaz de enfrentar una reducción poblacional y recuperarse hacia un estado previo. En campo, fue posible encontrarlo nuevamente en CAPA, el sitio de mayor éxito de captura antes del paso de los huracanes, indicando que su movimiento entre sitios se mantiene activo, respondiendo probablemente a los cambios en el ambiente. Además, mantiene su diversidad genética y no es posible detectar señal de cuello de botella genético, aún cuando pareciera que a nivel demográfico la disminución de individuos continúa. Así pues, es factible que su dinámica poblacional esté favoreciendo su permanencia en la isla y le permita hacer frente a catástrofes naturales como los huracanes. Este es el primer trabajo en islas en el que se da seguimiento a la variación genética de un roedor después de enfrentar un disturbio natural, que además pone en evidencia la activa respuesta que favorece su permanencia. Algunos estudios ecológicos sobre el impacto de perturbaciones en poblaciones de roedores han mostrado que su recuperación está asociada a su capacidad para explotar los recursos disponibles. En general, roedores oportunistas y/o generalistas (como *O. c. cozumelae*) tienen una mayor oportunidad de acelerar su recuperación hacia un estado cercano al de pre-huracán (Copa, 2007), al aprovechar el alimento disponible (Klinger, 2006) o desplazarse temporalmente hacia zonas que les proveen refugio y recursos (Swilling et al., 1998).

R. spectabilis, como ya se ha mencionado, es una especie mucho más susceptible debido a sus requerimientos de hábitat, su dinámica poblacional y sus bajas densidades poblacionales; de hecho, durante el 2011, sólo fue posible la captura de una hembra, lo que sugiere que se encuentra en un decremento de individuos crítico, lo que además nos impide obtener conclusiones de su estado genético actual. Sin embargo, es importante considerar que la probabilidad de extinción de una población, o bien, de su recuperación, está fuertemente asociada a su tamaño efectivo. Especies que mantienen tamaños efectivos pequeños, como parece ser el caso de *R. spectabilis*, son más propensas a la extinción, debido a que enfrentan la acción de la deriva génica, depresión por endogamia, acumulación de mutaciones deletéreas, pérdida de variación genética y con ello de su potencial evolutivo (Frankham, 2005).

Perspectivas

Evaluar los efectos que tienen los huracanes sobre las poblaciones naturales es fundamental en proyectos de conservación, sobre todo si se considera que son eventos cíclicos, con un promedio de 4.6 huracanes anuales para el Caribe (Waide, 1992) y con una probabilidad de ocurrencia para la costa de Quintana Roo del 50% por año (Jaúregui et al., 1980).

El presente trabajo puso en evidencia que *O. c. cozumelae* y *R. spectabilis* responden de manera distinta al paso de un huracán por Isla Cozumel, presentando diferentes consecuencias a nivel genético. Al parecer, *O. c. cozumelae* se desplazó de un lugar a otros de la isla, lo que generó un reacomodo de sus frecuencias alélicas, manteniendo su diversidad genética y diluyendo la evidencia de un cuello de botella. Además, los datos obtenidos en la población 2011 sugieren que esta especie se recupera, regresando a las condiciones previas al disturbio. Por otro lado, *R. spectabilis* presentó evidencias de un cuello de botella, con posibles extinciones locales y un decremento excesivo de sus tamaños poblacionales, probablemente asociado a su especificidad de hábitat. Pese a ello, tanto esta especie como *O. c. cozumelae* conservaron niveles altos de diversidad genética. Es por ello que, ambas respuestas podrían estar asociadas a la periodicidad en la ocurrencia de huracanes e incluso a las fluctuaciones estacionales en la zona. Por medio de selección balanceadora o “purga genética” las poblaciones podrían haberse visto beneficiadas después de atravesar cuellos de botellas anteriores y presentar las condiciones reportadas en el presente trabajo. Para verificarlo, podría realizarse un nuevo trabajo utilizando genes bajo selección, buscar sitios conservados y utilizar otros marcadores como SNP's y ver qué ocurre con ellos, al menos durante este evento de cuello de botella. Evaluar características de adecuación como éxito reproductivo y fenotipos también podría darnos referencia si los valores de diversidad genética son producto de una “limpieza” genética a lo largo de los años.

Los resultados de este estudio tienen un alto valor de conservación, no solo por las diferencias encontradas entre especies y por la evidencia del cuello de botella en *R. spectabilis*, sino también porque manifiestan la capacidad de los organismos para responder a perturbaciones que alteran el hábitat como son los huracanes. El mayor problema que enfrentan las poblaciones en la actualidad es el ritmo acelerado al que avanzan las perturbaciones humanas, y que puede conducir a su extinción antes de lograr su recuperación. En primer lugar, el problema de introducción de especies exóticas a Isla Cozumel es una severa amenaza que se conoce ya desde hace varios años. La introducción de especies afecta de manera general las interacciones de depredación, competencia, herbivoría, parasitismo, mutualismo y el proceso de transmisión de enfermedades (Coblentz, 1978; Donlan y Wilcox, 2008). El problema se agrava debido a que la mayoría de las especies insulares han evolucionado en ausencia de grandes depredadores o herbívoros, no tienen defensas o no pueden competir eficientemente ante su presencia. De esta forma, los roedores no tienen la capacidad de responder a este tipo de impacto, por lo que se vuelven extremadamente vulnerables con una grave consecuencia: disminución de las densidades poblacionales y finalmente la extinción. En Cozumel, se piensa que las bajas

densidades de roedores en la isla son el reflejo del impacto de la introducción de *Boa constrictor*, una especie introducida hace varias décadas a la isla y que incluso se piensa, causó la virtual extinción de *Peromyscus leucopus cozumelae*, el roedor más abundante hasta antes de la introducción (Gutiérrez-Granados, 2003).

En segundo lugar la pérdida de vegetación y la fragmentación de hábitat es una seria amenaza que se ha agravado en los últimos años y que ha puesto en jaque a la flora y fauna de la isla. Un sinnúmero de estudios sobre fragmentación de hábitat, urbanización y presencia de caminos en mamíferos pequeños han puesto en evidencia cómo este problema aumenta el aislamiento y la diferenciación de las poblaciones, favorece la endogamia, disminuye la sobrevivencia y el éxito de encontrar pareja y se eleva la mortalidad (Bolger et al., 1997; Vucetich et al., 2001; Hopton y Choate, 2002; Rico et al., 2007; Streatfield, 2009; Gomes et al., 2011). Además, la destrucción de vegetación nativa puede favorecer la invasión de especies exóticas como ratas y ratones domésticos y causar el desplazamiento de los roedores endémicos (Umetsu y Pardini, 2007). Incluso especies con alta capacidad de dispersión pueden sufrir, a través del tiempo, los efectos negativos de la fragmentación, posiblemente reduciendo su adecuación y causando extinciones locales (Dixo et al., 2009). Dichas perturbaciones, junto con los procesos demográficos propios de cada especie, podrían estar teniendo efectos genéticos sobre las poblaciones, e incluso, estar en sinergia con los efectos observados que tuvieron los huracanes.

Resulta entonces crucial reconocer la interdependencia de los procesos genéticos, demográficos y ecológicos que afectan la viabilidad de las poblaciones. Si bien se ha propuesto que la demografía es de importancia inmediata ya que determina los tamaños viables mínimos para que una población se mantenga (Lande, 1988), tomar en cuenta la conectividad del paisaje para permitir la inmigración (Loew et al., 2005; Mapelli et al., 2012) y considerar la influencia de las fluctuaciones temporales y los catástrofes naturales en las características genéticas de una especie (Lacy, 1997), es parte importante para la implementación de acciones para su protección y planes de conservación. Sin los planes pertinentes, factores genéticos negativos (como endogamia, pérdida de adecuación, entre otros ya descritos) pueden conducir a la extinción de los roedores en la isla, pero aun haciendo frente a ellos, las perturbaciones, principalmente las de origen antrópico, pueden limitar la recuperación de las poblaciones y por lo tanto su mantenimiento.

CONCLUSIONES

La elevada capacidad de dispersión de *O. c. cozumelae* parece permitirle hacerle frente a los estragos causados por huracanes: a nivel genético, se observa un claro movimiento del centro de la isla hacia la periferia, además se generó un cambio significativo en la distribución de las frecuencias alélicas, pero se conservó gran parte de la elevada variación genética existente antes de los huracanes. En cuanto al tamaño de la población, aun cuando se registró un decremento en el tamaño censal, no se detectó ninguna huella de la ocurrencia de un cuello de botella genético. Incluso se encontraron indicios de que la población parece recuperarse a nivel genético.

Por el contrario, la reducción en el tamaño de las poblaciones de *R. spectabilis* fue tal que se detectó posibles extinciones locales y sólo se encontraron individuos en un sitio hacia el norte de la isla. Evidentemente, se detectó la ocurrencia de un cuello de botella y la pérdida de alelos. La situación más crítica es que, al parecer, continúa el decremento de las densidades poblacionales, ya que para el año 2011, sólo fue posible la captura de un único individuo. Lo que, fuera de cualquier análisis genético, pone en evidencia el peligro crítico en el que se encuentra esta especie.

Es importante además, recalcar el papel que juegan otras amenazas como la introducción de especies exóticas y la fragmentación de hábitat, pues podrían exacerbar los efectos negativos que enfrentan los roedores en la isla y que podrían limitar cualquier capacidad de recuperación de la que pudieran echar mano sus poblaciones.

Este trabajo, representa una aportación fundamental en el conocimiento de los roedores en Isla Cozumel y enfatiza la necesidad de implementar planes de manejo y conservación que integren factores genéticos, demográficos y ecológicos con el fin de mantener la riqueza biológica que alberga la isla.

REFERENCIAS

- Abdelkrim J, Pascal M, Samadi S (2005) Island colonization and founder effects: the invasion of the Guadeloupe islands by ship rats (*Rattus rattus*). *Molecular Ecology*, **14**, 2923–2931.
- Adams JR, Vucetich LM, Hedrick PW, Peterson RO, Vucetich JA (2011) Genomic sweep and potential genetic rescue during limiting environmental conditions in an isolated wolf population. *Proceedings of the Royal Society B*, **278**, 3336–3344.
- Adler GH (1996) The island syndrome in insolated populations of a tropical forest rodent. *Oecología*, **108**, 694–700.
- Allendorf FW (1986) Genetic drift and the loss of alleles versus heterozygosity. *Zoo Biology*, **5**, 181-190.
- Allendorf FW, Ryman N (2002) The role of Genetics in Population Viability Analysis. En: Population Viability Analysis. Beissinger SR, McCollough DR. University of Chicago Press. USA. 50-85.
- Allendorf W, Luikart G (2007) *Conservation and the genetics of populations*. Ed. Blackwell, USA.
- Álvarez-Castañeda ST, Ortega-Rubio A (2003) Current status of rodents on islands in the Gulf of California. *Biological Conservation*, **109**, 157-163.
- Álvarez-Castañeda ST, Cortés-Calva P (2002) Extirpation of Bailey's pocket mouse, *Chaetodipus baileyi fornicatus* (Heteromyidae: Mammalia), from Isla Montserrat, Baja California Sur, México. *Western North American Naturalist*, **62**, 496-497.
- Álvarez-Filip L, Nava-Martínez G (2006). *Reporte del efecto de los Huracanes Emily y Wilma sobre arrecifes de la costa Oeste del Parque Nacional Arrecifes de Cozumel*. Parque Nacional Arrecifes de Cozumel, Departamento de Monitoreo y Vinculación Científica, CONANP. Cozumel, Quintana Roo, México.
- Amos W, Harwood J (1998) Factors affecting levels of genetic diversity in natural populations. *Proceedings of the Royal Society of London*, **353**, 177-186.
- Anderson CS (2004) Effects of Forest fragmentation on the abundance, distribution and population genetic structure of White-footed mice (*Peromyscus leucopus*). Tesis doctoral. Departamento de Zoología. Miami University, Oxford, Ohio. USA.
- Arellano E, González-Cozatl FX, Rogers DS (2005) Molecular systematics of Middle American harvest mice *Reithrodontomys* (Muridae), estimated from mitochondrial cytochrome b gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **37**, 529–540.
- Avice JC (2000) *Phylogeography. The history and formation of species*. Harvard University Press, Harvard.
- Balloux F, Lugon-Moulin N (2002) The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular ecology*, **11**, 155-165.
- Beaumont MA (1999) Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics*, **153**, 2013-2029.

- Bensch S, Andrén H, Hansson B, Pedersen HC, Sand H, Sejberg D, Waballen P, Akesson M, Liberg O (2006) Selection for Heterozygosity Gives Hope to a Wild Population of Inbred Wolves. *PLoS ONE*, **1**, e72. doi:10.1371/journal.pone.0000072.
- Berthier K, Galan M, Foltete JC, Charbonnel N, Cosson JF (2005) Genetic structure of the cyclic fossorial water vole (*Arvicola terrestris*): landscape and demographic influences. *Molecular Ecology*, **14**, 2861–2871.
- Bidlack AL, Cook JA (2002) A nuclear perspective on endemism in northern flying squirrels (*Glaucomys sabrinus*) of the Alexander Archipelago, Alaska. *Conservation Genetics*, **3**, 247–259.
- Bijlsma R, Bundgaard J, Boerema AC (2000) Does inbreeding affect the extinction risk of small populations? Predictions from *Drosophila*. *Journal of Evolutionary Biology*, **13**, 502–514.
- Blouin MS (2003) DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural population. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**, 503–511.
- Bolger DT, Alberts AC, Sauvajot RM, Potenza JP, McCalvin C, Tran D, Mazzoni S, Soul ME (1997) Response of rodents to habitat fragmentation in coastal southern California. *Ecological Applications*, **7**, 552–563.
- Bonhomme F, Miyashita N, Boursot P, Catalan J, Moriwaki K (1989) Genetical variation and polyphyletic origin in Japanese *Mus musculus*. *Heredity*, **63**, 299–308.
- Booy G, Hendriks RJ, Smulders MJ, Van Groenendael JM, Vosman B (2000) Genetic Diversity and the Survival of Populations. *Plant Biology*, **2**, 379–395.
- Bouzat JL (2010) Conservation genetics of population bottlenecks: the role of chance, selection, and history. *Conservation Genetics*, **11**, 463–478.
- Bradshaw CJ, Isagi Y, Kaneko S, Brook BW, Bowman D, Frankham R (2007) Low genetic diversity in the bottlenecked population of endangered non-native banteng in northern Australia. *Molecular Ecology*, **16**, 2998–3008.
- Busch JD, Waser PM, DeWoody JA (2007) Recent demographic bottlenecks are not accompanied by a genetic signature in banner-tailed kangaroo rats (*Dipodomys spectabilis*). *Molecular Ecology*, **16**, 2450–2462.
- Carleton MD (1980) Phylogenetic relationships in neotomine-peromyscine rodents (Muroidea) and a reappraisal of the dichotomy within the New World Cricetinae. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology University of Michigan*, **157**, 1–146.
- Ceballos G, Rodríguez P, Medellín R (1998) Assessing conservation priorities in megadiverse Mexico: Mammalian diversity, endemism and endangerment. *Ecological Applications*, **8**, 8–17.
- Chapman JR, Nakagawa S, Coltman DW, Slate J, Sheldon BC (2009) A quantitative review of heterozygosity–fitness correlations in animal populations. *Molecular Ecology*, **18**, 2746–2765.
- Coblentz BE (1978) The effects of feral goats (*Capra hircus*) on island ecosystems. *Biological Conservation*, **13**, 279–286.

- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (2007) *Estudio Previo Justificativo para el establecimiento del Área de Protección de Flora y Fauna Isla de Cozumel, Quintana Roo, México*. México.
- Conabio (2006) *Capital Natural y Bienestar Social*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Conner JK, Hartl DL (2004) *A primer of ecological genetics*. Sinauer Associates, Inc. USA. pp. 9-12.
- Cook WM, Timm RM, Hyman DE (2001) Swimming ability in the three Costa Rica dry forest rodents. *Revista de Biología Tropical*, **49**, 1177-1181.
- Copa MC (2007) *Efectos de los huracanes Emily y Wilma en los mamíferos de Cozumel*. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, UNAM. México. 101 pp.
- Cornuet JM, Luikart G (1997) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, **144**, 2001-2014.
- Coulon A, Guillot G, Cosson JF, Angibault JM, Aulagnier S, Cargnelutti B, Galan M, Hewison AJ (2006) Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population. *Molecular Ecology*, **15**, 1669-1679.
- Cristescu R, Sherwin WB, Handasyde K, Cahill V, Cooper DW (2010) Detecting bottlenecks using BOTTLENECK 1.2.02 in wild populations: the importance of the microsatellite structure. *Conservation Genetics*, **11**, 1043-1049.
- Cuarón AD, Valenzuela-Galván D, García-Vasco D, Copa ME, Bautista S (2009) Conservation of the endemic dwarf carnivores of Cozumel Island, México. *Small Carnivore Conservation*, **41**, 15-21.
- Cuarón AD, Martínez-Morales MA, McFadden K, Valenzuela D, Gompper M (2004) The status of dwarf carnivores on Cozumel Island, Mexico. *Biodiversity and Conservation*, **13**, 317-331.
- Daly JC (1981) Effects of Social Organization and Environmental Diversity on Determining the Genetic Structure of a Population of the Wild Rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *Evolution*, **35**, 689-706.
- Dixo M, Metzger JP, Morgante JS, Zamudio KR (2009) Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biological Conservation*, **142**, 1560-1569.
- Donlan CJ, Wilcox C (2008) Diversity, invasive species and extinctions in insular ecosystems. *Journal of Applied Ecology*, **45**, 1114-1123.
- Duffie C, Glenn TC, Vargas FH, Parker PG (2009) Genetic structure within and between island populations of the flightless cormorant (*Phalacrocorax harrisi*). *Molecular Ecology*, **18**, 2103-2111.
- Echenique-Díaz LM, Yokoyama J, Takahashi O, Kawata M (2009) Genetic structure of island populations of the endangered bat *Hipposideros turpis turpis*: implications for conservation. *Population Ecology*, **51**, 153-160.

- Ehrlich D, Jorde PE (2005) High genetic variability despite high amplitude population cycles in lemmings. *Journal of Mammalogy*, **86**, 380-385.
- Ehrlich D, Jorde PE, Krebs CJ, Kenney AJ, Stacy JE, Stenseth NC (2001) Spatial structure of lemming populations (*Dicrostonyx groenlandicus*) fluctuating in density. *Molecular Ecology*, **10**, 481-495.
- Eisenberg JF (1989) *Mammals of the Neotropics*. The Northern Neotropics, vol. 1. University of Chicago Press, Chicago, IL. 449 pp.
- Eldridge MD, Kinnear JE, Zenger KR, McKenzie LM, Spencer PB (2004) Genetic diversity in remnant mainland and “pristine” island populations of three endemic Australian macropodids (Marsupialia): *Macropus eugenii*, *Lagorchestes hirsutus* and *Petrogale lateralis*. *Conservation Genetics*, **5**, 325-338.
- Eldridge MD, King JM, Loupis AK, Spencer PB, Taylor AC, Pope LC, Hall GP (1999) Unprecedented low levels of genetic variation and inbreeding depression in an island population of the black-footed rock-wallaby. *Conservation Biology*, **13**, 531-541.
- England PR, Cornuet JM, Berthier P, Tallmon DA, Luikart G (2005) Estimating effective population size from linkage disequilibrium: severe bias in small samples. *Conservation Genetics*, **7**, 3003-3008.
- Engstrom MD, Schmidt CA, Morales JC, Dowler RC (1989) Records of mammals from Isla Cozumel, Quintana Roo, Mexico. *Southwestern Naturalist*, **34**, 413-449.
- Estes-Zumpf WA, Rachlow JL, Waits LP, Warheit KI (2010) Dispersal, gene flow, and population genetic structure in the pygmy rabbit (*Brachylagus idahoensis*). *Journal of Mammalogy*, **91**, 208-219.
- Excoffier L, Slatkin M (1998) Incorporating genotypes of relatives into a test of Linkage Disequilibrium. *American Journal of Human Genetics*, **62**, 171-180.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **1**, 47-50.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of Molecular Variance Inferred from Metric Distances among DNA haplotypes: Applications to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**, 479-491.
- Faubet P, Gaggiotti OE (2008) A new Bayesian method to identify the environmental factors that influence recent migration. *Genetics*, **178**, 1491-1504.
- Filip LA, Moreno MB (2007) Arrecifes coralinos, selvas tropicales y huracanes. *Ciencias*, **85**, 14-17.
- Fisher DO, Owens IP (2004) The comparative method in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution*, **19**, 391-398.
- Fleming TH, Murray KL (2009) Population and Genetic Consequences of Hurricanes for Three Species of West Indian Phyllostomid Bats. *BIOTROPICA*, **41**, 250-256.
- Flores JS (1992) *Vegetación de las islas de la Península de Yucatán*. Etnoglora Yucateca. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.

- Foll M, Gaggiotti OE (2006) Identifying the environmental factors that determine the genetic structure of Populations. *Genetics*, **174**, 875-891.
- Fortes-Corona IA (2004) *Ecología de los roedores endémicos de la Isla de Cozumel, Quintana Roo, México*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara, México.
- Foster JB (1964) Evolution of Mammals on Islands. *Nature*, **202**, 234-235.
- Frankham R (1995) Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. *Genetical Research*, **66**, 95-107.
- Frankham R (1996) Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology*, **10**, 1500-1508.
- Frankham R (1997) Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity*, **78**, 311-327.
- Frankham R (1998) Inbreeding and Extinction: Island Populations. *Conservation Biology*, **12**, 665-675.
- Frankham R (2005) Genetics and extinction. *Biological Conservation*, **126**, 131-140.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2005) *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press, Cambridge. Reino Unido.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2010) *Introduction to conservation Genetics*. Segunda Edición. Cambridge University Press. New York, USA. pp. 1-7, 41-65.
- Fuentes-Montemayor E, Cuarón AD, Vázquez-Domínguez E, Benítez-Malvido J, Valenzuela-Galván D, Andresen E (2009) Living on the edge: roads and edge effects on small mammal populations. *Journal of Animal Ecology*, **78**, 857-865.
- Futuyma DJ (2009) *Capítulo 11: Natural Selection and Adaptation*. Evolution, Second Edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland Massachusetts. USA.
- Gaggiotti OE, Brooks SP, Amos W, Harwood J (2004) Combining demographic, environmental and genetic data to test hypotheses about colonization events in metapopulations. *Molecular Ecology*, **13**, 811-825.
- Gaggiotti OE, Lange O, Rassmann K, Gliddon C (1999) A comparison of two indirect methods for estimating average levels of gene flow using microsatellite data. *Molecular ecology*, **8**, 1513-1520.
- Galan M, Van Hooft WF, Legrand D, Berthier K, Loiseau A, Granjon L, Cosson JF (2004) A multiplex panel of microsatellites markers for widespread sub-Saharan rodents of the genus *Mastomys*. *Molecular Ecology Notes*, **4**, 321-323.
- Gannon MR, Willig MR (2009) Islands in the storm: disturbance ecology of plant-visiting bats on the hurricane-prone island of Puerto Rico. En: *Evolution, ecology, and conservation of island bats, Chapter 10*. Fleming TH, Racey PA (Eds.). University of Chicago Press, Chicago, Illinois. USA.

- García-Aguilar A (2010) *Evaluación de los cambios en la estructura genética de Oryzomys couesi cozumelae posterior a los huracanes Emily y Wilma en Cozumel, Quintana Roo*. Tesis de licenciatura en Biología. Universidad Autónoma del Estado de México. México, D.F.
- Gauffre B, Estoup A, Bretagnolle V, Cosson JF (2008) Spatial genetic structure of a small rodent in a heterogeneous landscape. *Molecular Ecology*, **17**, 4619-4629.
- Gerlach G, Jueterbock A, Kraemer P, Deppermann J, Harmand P (2010) Calculations of population differentiation based on $G_{(ST)}$ and D : forget $G_{(ST)}$ but not all of statistics! *Molecular Ecology*, **19**, 3845-3852.
- Gliwicz J (1980) Island populations of rodents: their organization and functioning. *Biological Reviews*, **55**, 109-138.
- Gomes V, Ribeiro R, Carretero MA (2011) Effects of urban habitat fragmentation on common small mammals: species versus communities. *Biodiversity Conservation*, **20**, 3577-3590.
- González-Baca CA (2006) *Ecología de Forrajeo de la Boa (Boa constrictor), un Depredador Introducido a la Isla Cozumel*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Goossens B, Chikhi L, Taberlet P, Waits LP, Allaine D (2001) Microsatellite analysis of genetic variation among and within Alpine marmot populations in the French Alps. *Molecular Ecology*, **10**, 41-52.
- Goudet J (1995) FSTAT (V.1.2): A computer program to calculate F-Statistics. *Journal of Heredity*, **86**, 485-486.
- Goudet J, Raymond M, de Meeüs T, Rousset F (1996) Testing differentiation in diploid populations. *Genetics*, **144**, 1933-1940.
- Grant P (Ed.) (1998) *Evolution on islands*. Oxford University Press, Oxford. UK.
- Gray MM, Granka JM, Bustamante CD, Sutter NB, Boyko AR, Zhu L, Ostrander EA, Wayne RK (2009) Linkage disequilibrium and demographic history of wild and domestic canids. *Genetics*, **181**, 1493-1505.
- Guillot G (2009) On the inference of spatial structure from population genetics data using the Tess program. *Bioinformatics*, **25**, 1795-1801.
- Gutiérrez-Granados G (2003) *Ecología de los ratones de Cozumel y su relación con el sotobosque*. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, UNAM, México. México, D.F.
- Hafner DJ, Riddle BR, Álvarez-Castañeda ST (2001) Evolutionary relationships of White-footed mice (*Peromyscus*) on islands in the sea of Cortéz, México. *Journal of Mammalogy*, **82**, 775-790.
- Hall ER (1981) *The mammals of North America*. Segunda edición. Ed. John Wiley and Sons, New York. USA.
- Hamilton MB (2009) *Population Genetics*. Wiley-Blackwell. USA. 407 pp.
- Hartl DL, Clark AG (2006) *Principles of Population Genetics*. Sinauer Associates Inc. Sunderland Massachusetts. USA. 545 pp.
- Hedrick PW (2000) *Genetics of Populations*. Jones and Bartlett Publishers. Canada. 544 pp.

- Hedrick PW (2005) A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, **59**, 1633-1638.
- Hernández AU, Bravo C (2005a) Resumen del huracán “Emily” del océano Atlántico. Unidad del Servicio Meteorológico Nacional, Subdirección General Técnica, Comisión Nacional del Agua. México.
- Hernández AU, Bravo C (2005b) Resumen del huracán “Wilma” del océano Atlántico. Unidad del Servicio Meteorológico Nacional, Subdirección General Técnica, Comisión Nacional del Agua. México.
- Hinten G, Harris F, Rossetto M, Baverstock PR (2003) Genetic variation and island biogeography: microsatellite and mitochondrial DNA variation in island populations of the Australian bush rat, *Rattus fuscipes greyii*. *Conservation Genetics*, **4**, 759–778.
- Hoelzel AR (1999) Impact of population bottlenecks on genetic variation and the importance of life-history; a case study of the northern elephant seal. *Biological Journal of the Linnean Society*, **68**, 23–39.
- Höglund J (2009) *Evolutionary Conservation Genetics*. Oxford University Press. New York, USA. pp. 1-17.
- Hooper ET (1952) A systematic review of harvest mice (Genus *Reithrodontomys*) of Latin America. *Miscellaneous Publications of Museum of Zoology University of Michigan*, **77**, 1-255.
- Hopton ME, Choate JR (2002) Effects of Habitat Fragmentation on Movement of Small Mammals along a Kansas Highway. *The Southwestern Naturalist*, **47**, 319-325.
- Howell AH (1914) Revision of the American harvest mice (Genus *Reithrodontomys*). *North American Fauna*, **36**, 1-97.
- Hubisz M, Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, **9**, 1322-1332.
- Imbert D, Portecop J (2008) Hurricane disturbance and forest resilience: Assessing structural vs. functional changes in a Caribbean dry forest. *Forest Ecology and Management*, **255**, 3494–3501.
- IUCN (2010) IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.1 www.iucnredlist.org. Downloaded on 15 de Marzo, 2010. (Cuarón A, Vázquez E, de Grammont PC, 2008. *Reithrodontomys spectabilis*).
- Janzen DH (1981) Guanacaste tree seed-swallowing by Costa Rican range horses. *Ecology*, **62**, 587-592.
- Jáuregui E, Vidal J, Cruz F (1980) Los ciclones y tormentas tropicales en Quintana Roo durante el periodo 1871-1978. *En Memorias del Simposio Quintana Roo: Problemática y perspectiva*. Instituto de Geografía UNAM y CIQRO; Cancún, México. pp. 47-64.
- Jensen JL, Bohonak A, Kelley ST (2005) Isolation by distance, web service v.3.23. *BMC Genetics*, **6**, 13. <http://ibdws.sdsu.edu/>
- Jones JKJr., Lawlor TE (1965) Mammals from Isla Cozumel, Mexico, with description of a new species of harvest mouse. *University Kansas Publishing, Museum of Natural History*, **16**, 409-419.
- Jones JKJr. (1982) *Reithrodontomys spectabilis*. *Mammalian Species*. American Society of Mammalogists, **193**, 1.

- Jones ME, Paetkau D, Gaffen E, Moritz C (2004) Genetic diversity and population structure of Tasmanian devils, the largest marsupial carnivore. *Molecular Ecology*, **13**, 2197–2209.
- Jost L (2008) G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology*, **17**, 4015-4026.
- Kalinowski ST, Wagner AP, Taper ML (2006) ML-Relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 576-579.
- Kelt DA, Meserve PL, Nabors LK, Forister ML, Gutiérrez JR (2004) Foraging ecology of small mammals in semiarid Chile: the interplay of biotic and abiotic effects. *Ecology*, **85**, 383-397.
- Kilpatrick CW (1981) *Genetic structure of insular populations*. En: *Mammalian Population Genetics*. Smith MH, Joule J (Eds.). University of Georgia Press, Athens, Georgia. USA. pp. 28–59.
- Kimura M, Ohta T (1978) Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, **75**, 2868-2872.
- Klinger R (2006) The interactions of disturbances and small mammal community dynamics in a lowland forest in Belize. *Journal of Animal Ecology*, **75**, 1227-1238.
- Kraaijeveld-Smit FJ, Lindenmayer DB, Taylor AC, MacGregor C, Wertheim B (2007) Comparative genetic structure reflects underlying life histories of three sympatric small mammal species in continuous forest of south-eastern Australia. *Oikos*, **116**, 1819-1830.
- Küpper C, Burke T, Székely T, Dawson DA (2008) Enhanced cross-species utility of conserved microsatellite markers in shorebirds. *BMC Genomics*, **9**, 502.
- Lacy RC (1997) Importance of Genetic Variation to the viability of mammalian populations. *Journal of Mammalogy*, **78**, 320-335.
- Lande R (1988) Genetics and Demography in Biological Conservation. *Science New series*, **241**, 1455-1460.
- Lande R (1994) Risk of population extinction from fixation of new deleterious mutations. *Evolution*, **48**, 1460–1469.
- Lara-Lara JR (Ed) (2008) Los ecosistemas costeros, insulares y epicontinentales. En: *Capital natural de México*, vol. I: *Conocimiento actual de la biodiversidad*. Conabio, México. pp. 109-134.
- Laurie CC, Nickerson DA, Anderson AD, Weir BS, Livingston RJ, Dean MD, Smith KL, Schadt EE, Nachman MW (2007) Linkage Disequilibrium in Wild Mice. *PLoS Genetics*, **3**, e144.
- Li You-Chun, Korol AB, Fahima T, Beiles A, Nevo E (2002) Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology*, **11**, 2453-2465.
- Loew SS, Williams DF, Ralls K, Pilgrim K, Fleischer RC (2005) Population structure and genetic variation in the endangered Giant Kangaroo Rat (*Dipodomys ingens*). *Conservation Genetics*, **6**, 495-510.

- Loiseau A, Konecný A, Galan M, Bryja J, Cosson JF, Brouat C (2007) New polymorphic microsatellite loci for rodents of the genus *Mastomys* using PCR multiplexing, and cross-species amplification in *Myomys* and *Praomys*. *Molecular Ecology Notes*, **7**, 684-687.
- López X, Medellín RA (2005) *Oryzomys couesi* (Alston, 1877). En: Los mamíferos silvestres de México. Ceballos G, Oliva G (Coords). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Fondo de Cultura Económica. México, D.F. pp. 709-710.
- Loxterman JL, Mocerief ND, Dueser RD (1998) Dispersal abilities and genetic population structure of insular and mainland *Oryzomys palustris* and *Peromyscus leucopus*. *Journal of Mammalogy*, **79**, 66-77.
- Lugo AE (2000) Effects and outcomes of Caribbean hurricanes in a climate change scenario. *The Science of the Total Environment*, **262**, 243-251.
- Lugo AE (2008) Visible and invisible effects of hurricanes on forest ecosystems: an international review. *Austral Ecology*, **33**, 368-398.
- Luikart G, Allendorf FW, Cornuet JM, Sherwin WB (1998) Distortion of Allele Frequency Distributions Provides a Test for Recent Population Bottlenecks. *The American Genetic Association*, **89**, 238-247.
- Macouzet TM, Escalante-Pliego P (2000) New records of birds for Cozumel island, México. *Southwestern Naturalist*, **45**, 79-81.
- Manel S, Schwartz MK, Gordon L, Taberlet P (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**, 189-197.
- Mapelli FJ, Mora MS, Mirol PM, Kittlein MJ (2012) Population structure and landscape genetics in the endangered subterranean rodent *Ctenomys porteousi*. *Conservation Genetics*, **13**, 165-181.
- McEachern MB, Van Vuren DH, Floyd CH, May B, Eadie JM (2011) Bottlenecks and rescue effects in a fluctuating population of golden-mantled ground squirrels (*Spermophilus lateralis*). *Conservation Genetics*, **12**, 285-296.
- Mellink E, Ceballos G, Luévano J (2002) Population demise and extinction threat of the Angel de la Guarda deer mouse (*Peromyscus guardia*). *Biological Conservation*, **108**, 107-111.
- Mendoza-Martínez A (2011) Variabilidad y estructura genética del murciélago zapotero *Artibeus jamaicensis* en tres tipos de vegetación de la Isla Cozumel. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Meyer J, Kohnen A, Durka W, Wöstemeyer J, Rossmann NB, Brandl R (2009) Genetic structure and dispersal in a small South African rodent. Is dispersal female-biased? *Mammalian Biology*, **74**, 478-487.
- Michalakis Y, Excoffier L (1996) A generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special reference for microsatellite loci. *Genetics*, **142**, 1061-1064.
- Miller PS, Hedrick PW (2001) Purging of inbreeding depression and fitness decline in bottlenecked populations of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology*, **14**, 595-601.

- Milton K, Lozier JD, Lacey EA (2009) Genetic structure of an isolated population of mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*) on Barro Colorado Island, Panama. *Conservation Genetics*, **10**, 347-358.
- Mimura N, Nurse L, McLean RF, Agard J, Briguglio L, Lefale P, Payet R, Sem G (2007) Small islands. En: *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Parry ML, Canziani OF, Palutikof JP, van der Linden PJ, Hanson CE (Eds.), Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido, 687-716.
- Mossman A, Waser PM (2001) Effects of habitat fragmentation on population genetic structure in the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*). *Canadian Journal of Zoology*, **79**, 285-295.
- Musser GG, Carleton MD (1993) Family Muridae. En: *Mammal Species of the World a Taxonomic and Geographic Reference*. Wilson DE, Reeder DM (Eds.). Segunda Edición. Smithsonian Institution Press, Washington D.C., USA. pp. 501-755.
- Neff BD, Gross MR (2001) Microsatellite evolution in vertebrates: inference from AC dinucleotide repeats. *Evolution*, **55**, 1717: 1733.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583-590.
- Oli MK, Holler NR, Wooten MC (2001) Viability analysis of endangered Gulf Coast beach mice (*Peromyscus polionotus*) populations. *Biological Conservation*, **97**, 107-118.
- Oliviera EJ, Pádua JG, Zucchi MI, Vencovsky R, Vieira ML (2006) Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genetics and Molecular Biology*, **29**, 294-307.
- Ovenden J, Peel D, Street R, Courtney A, Hoyle S (2007) The genetic effective and adult census size of an Australian population of tiger prawns (*Penaeus esculentus*). *Molecular Ecology*, **16**, 127-38.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 288-295.
- Peel D, Ovenden J, Peel SL (2004) NeEstimator: Software for Estimating Effective Population Size, V.1.3. Queensland Government: Department of Primary Industries and Fisheries, Brisbane, Queensland.
- Peery MZ, Kirby R, Reid BN (2012) Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. *Molecular Ecology*, **21**, 3403-3418.
- Pella J, Masuda M (2001) Bayesian methods for analysis of stock mixtures from genetic characters. *Fishery Bulletin*, **99**, 151-167.
- Pemberton JM, Smith JA, Coulson TN, Marshall TC, Slate J, Paterson S, Albon SD, Clutton-Brock TH, Sneath PH (1996) The Maintenance of Genetic Polymorphism in Small Island Populations: Large Mammals in the Hebrides [and Discussion]. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, **351**, 745-752.

- Pertoldi C, Hansen MM, Loeschcke V, BoMadsen A, Jacobsen L, Baagoe H (2001) Genetic consequences of population decline in the European otter (*Lutra lutra*): an assessment of microsatellite DNA variation in Danish otters from 1883 to 1993. *Proceedings of the Royal Society B*, **268**, 1775-1781.
- Piñero D et al. (2008) La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. En: *Capital natural de México*, vol. I: *Conocimiento actual de la biodiversidad*. Conabio, México. pp. 437-494.
- Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A (2004) GeneClass2: a software for genetic assignment and first generation migrants detection. *Journal of Heredity*, **95**, 536-539.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945-959.
- Radespiel U, Rakotondravony R, Chikhi L (2008) Natural and Anthropogenic Determinants of Genetic Structure in the Largest Remaining Population of the Endangered Golden-Brown Mouse Lemur, *Microcebus ravelobensis*. *American Journal of Primatology*, **70**, 860-870.
- Ramachandra NB, Ranjini MS (2009) Experiments to Demonstrate Change in Allelic Frequency by Genetic Drift. Unit on Evolution and Genetics, DOS in Zoology, University of Mysore, India.
- Ramakrishnan U, Hadly EA, Mountain JL (2005) Detecting past population bottlenecks using temporal genetic data. *Molecular Ecology*, **14**, 2915-2922.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**, 248-249
- Redeker S, Andersen LW, Pertoldi C (2006) Genetic structure, habitat fragmentation and bottlenecks in Danish bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Mammalian Biology*, **71**, 144-158.
- Reed DH, Frankham R (2003) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, **17**, 230-237.
- Reid FA (1997) *A field guide to the mammals of Central America and southeast Mexico*. Oxford University Press, Oxford, UK. 260 pp.
- Rentaría AM (2007) Breve revisión de los marcadores moleculares: Microsatélites. En: *Ecología Molecular*. Eguiarte LE, Souza V, Aguirre X (Comp.). Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio). México. pp. 548-550.
- Rice WR (1989) Analysing tables of statistical test. *Evolution*, **43**, 223-225.
- Rico A, Kindlamann P, Sedláček F (2007) Barrier effects of roads on movements of small mammals. *Folia Zoologica*, **56**, 1-12.
- Romero-Nájera I (2004) *Distribución, abundancia y uso de hábitat de Boa constrictor introducida a la Isla Cozumel*. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

- Rosenbaum HC, Weinrich MT, Stoleson SA, Gibbs JP, Baker CS, DeSalle R (2002) The Effect of Differential Reproductive Success on Population Genetic Structure: Correlations of Life History With Matrilineal Inheritance in Humpback Whales of the Gulf of Maine. *The Journal of Heredity*, **93**, 389–399.
- Rossiter SJ, Jones G, Randsome RD, Barratt EM (2000) Genetic variation and population structure in the endangered greater horseshoe bat *Rhinolophus ferrumequinum*. *Molecular Ecology*, **9**, 1131-1135.
- Rousset F (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, **8**, 103-106.
- Russell JC, Ruffino L (2012) The influence of spatio-temporal resource fluctuations on insular rat population dynamics. *Proceedings of the Royal Society B*, **279**, 767-774.
- Ryman N, Reuterwall C, Nygren K, Nygren T (1980) Genetic variation and differentiation in Scandinavian moose (*Alces alces*): are large mammals monomorphic? *Evolution*, **34**, 1037- 1049.
- Sánchez O (1993) Análisis de algunas tendencias ecogeográficas del género *Reithrodontomys* (Rodentia: Muridae) en México. pp. 25-44. En: *Avances en el Estudio de los Mamíferos de México*, (Medellín RA, Ceballos G, eds.). Publicaciones Especiales, Vol. 1, Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C., México, D. F.
- Sánchez-Cordero V (2003) *Oryzomys couesi cozumelae*. Estado actual del conocimiento biológico de algunas especies de roedores de las familias Muridae, Geomyidae, Heteromyidae y Sciuridae (Rodentia: Mammalia) incluidas en el PROY-NOM-059-ECOL-2000. Departamento de Zoología, Instituto de Biología, UNAM. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto W036. México.
- Sánchez-Rojas G, Sánchez-Cordero V, Briones M (2004) Effect of Plant Species, Fruit Density and Habitat on Post-Dispersal Fruit and Seed Removal by Spiny Pocket Mice (*Liomys pictus*, Heteromyidae) in a Tropical Dry Forest in Mexico. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, **39**, 1–6.
- Selkoe KA, Toonen RJ (2006) Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, **9**, 615–629.
- SEMARNAT (2010) Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, 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, Jueves 30 de diciembre de 2010. pp. 1-78.
- Shama LN, Kubow KB, Jokela J, Robinson CT (2011) Bottlenecks drive temporal and spatial genetic changes in alpine caddisfly metapopulations. *BMC Evolutionary Biology*, **11**, 278.
- Slatkin M (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, **139**, 457-462.
- Slatkin M (2008) Linkage disequilibrium: understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Natural Reviews Genetics*, **9**, 477-485.

- Smith TB, Wayne RK (Eds.) (1996) *Molecular genetics approaches in conservation*. Oxford University Press, Oxford. UK.
- Solano P, Ravel S, Bouyer J, Camara M, Kagbadouno MS, Dyer N, Gardes L, Herault D, Donnelly MJ, DeMeeus T (2009) The Population Structure of *Glossina palpalis gambiensis* from Island and Continental Locations in Coastal Guinea. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **3**, e392.
- Spielman D, Brook BW, Frankham R (2004) Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **101**, 15261-15264.
- Spiller DA, Losos JB, Schoener TW (1998) Impact of a Catastrophic Hurricane on Island Populations. *Science*, **281**, 695-697.
- Storz JF, Beaumont MA (2002) Testing for genetic evidence of population expansion and contraction: an empirical analysis of microsatellite DNA variation using a hierarchical Bayesian model. *Evolution*, **56**, 154-166.
- Storz JF, Bhat HR, Kunz TH (2001) Genetic consequences of polygyny and social structure in an Indian fruit bat, *Cynopterus sphinx*. I. Inbreeding, outbreeding, and population subdivision. *Evolution*, **55**, 1215-1223.
- Streatfeild C (2009) The effects of habitat fragmentation on the demography and population genetics structure of *Uromys caudimaculatus*. Tesis doctoral. School of Natural Resources Sciences, Queensland University Technology. Brisbane, Queensland, Australia.
- Swilling WRJr., Wooten MC, Holler NR, Lynn WJ (1998) Population Dynamics of Alabama Beach Mice (*Peromyscus polionotus ammobates*) following Hurricane Opal. *American Midland Naturalist*, **140**, 287-298.
- Takezaky N, Nei M, Tamura K (2010) POPTREE2: Software for Constructing Population Trees from Allele Frequency Data and Computing Other Population Statistics with Windows Interface. *Molecular Biology and Evolution*, **27**, 747-752.
- Tanner EV, Kapos V, Healey JR (1991) Hurricane Effects on Forest Ecosystems in the Caribbean. *Biotropica*, **23**, 513-521.
- Tellez O (1989) *Las plantas de Cozumel: Guía Botánico-Turística de la isla de Cozumel, Quintana Roo*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Templeton AR (2006) *Population genetics and Microevolutionary theory*. John Wiley & Sons, Inc, Press. USA. pp. 1-19.
- U.S Global Change Research Program (GCRP), 2010. Regional Climate Impacts: Islands. Versión online: <http://downloads.climatescience.gov/usimpacts/pdfs/islands.pdf>
- Umetsu F, Pardini R (2007) Small mammals in a mosaic of forest remnants and anthropogenic habitats—evaluating matrix quality in an Atlantic forest landscape. *Landscape Ecology*, **22**, 517-530.
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Willis DP, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping error in microsatellites data. *Molecular Ecology Notes*, **4**, 535-538.

- Vázquez-Domínguez E, Arita ET (2010) The Yucatan Peninsula: biogeographical history 65 million years in the making. *Ecography*, **33**, 212-219.
- Vázquez-Domínguez E, Espindola S (2013) Characterization of ten new microsatellite loci from the endangered rodent, *Reithrodontomys spectabilis*. *Conservation Genetics Resources*, **5**, 251-253.
- Vázquez-Domínguez E, Paetkau D, Tucker NJ, Hinten G, Moritz C (2001) Resolution of natural groups using iterative assignment tests: an example of two species of Australian native rats (*Rattus*). *Molecular Ecology*, **10**, 2069-78.
- Vázquez-Domínguez E (2002) Phylogeography, historical patterns and conservation of natural areas. En: Protected areas and the regional planning imperative in North America. Nelson G, Day JC, Sportza LM, Loucky J, Vásquez C (Eds.). University of Calgary Press, Calgary, Canadá. pp. 369-378.
- Vázquez-Domínguez E, Vega R (2006) ¿Dónde estamos y hacia dónde vamos en el conocimiento genético de los mamíferos mexicanos? pp. 67-73. En: Genética y mamíferos mexicanos: presente y futuro. Vázquez-Domínguez E, Hafner DJ (Eds). *New México Museum of Natural History and Science*, Boletín 32. Albuquerque, New Mexico.
- Vázquez-Domínguez E, Piñero D, Ceballos G (1999) Linking heterozygosity, demography, and fitness of tropical populations of *Liomys pictus*. *Journal of Mammalogy*, **80**, 810-822.
- Vázquez-Domínguez E, Ceballos G, Piñero D (2002) Exploring the relation between genetic structure and habitat heterogeneity in the rodent *Liomys pictus* from Chamela, Jalisco. *Acta Zoológica Mexicana*, **86**, 17-28.
- Vázquez-Domínguez E, Ceballos G, Cruzado J (2004) Extirpation of an insular subspecies by a single introduced cat: the case of the endemic deer mouse *Peromyscus guardia* on Estanque Island, Mexico. *Oryx*, **38**, 347-350.
- Vázquez-Domínguez E, Suárez-Atilano M, Warren B, González-Baca C, Cuarón A (2012) Genetic evidence of a recent successful colonization of introduced species on islands: *Boa constrictor imperator* on Cozumel Island. *Biological Invasions*, On-line: DOI 10.1007/s10530-012-0217-x.
- Vega R, Vázquez-Domínguez E, Puente AM, Cuarón AD (2007) Unexpected high levels of genetic variability and the population structure of an island endemic rodent (*Oryzomys couesi cozumelae*). *Biological Conservation*, **137**, 210-222.
- Vega R (2006) *Estructura y diversidad genética de Oryzomys palustris cozumelae de la Isla de Cozumel*. Tesis de Maestría, Instituto de Ecología, UNAM. México, D.F.
- Vilà C, Sundqvist Anna-Karin, Flagstad Ø, Seddon J, Björnerfeldt S, Kojola I, Casulli A, Sand H, Wabakken P, Ellegren H (2003) Rescue of a severely bottlenecked wolf (*Canis lupus*) population by a single immigrant. *Proceedings of the Royal Society B*, **270**, 91-97.

- Vinicius M, Weimer TA, Callegari-Jacques SM, Mattevi MS (2004) Biochemical polymorphisms and genetic relationships in rodents of the genera *Oryzomys* and *Oligoryzomys* (Sigmodontinae) from Brazil. *Biochemical Genetics*, **42**, 317-329.
- Vitousek PM, Loope LL, Adersen H (Eds.) (1995) *Islands: biological diversity and ecosystem function*. Springer. New York, USA. 238 pp.
- Vucetich LM, Vicetich JA, Joshi CP, Waite TA, Peterson RO (2001) Genetic (RAPD) diversity in *Peromyscus maniculatus* populations in a naturally fragmented landscape. *Molecular Ecology*, **10**, 35-40.
- Wagner AP, Creel S, Kalinowski ST (2006) Estimating relatedness and relationship using microsatellite loci with null alleles. *Heredity*, **93**, 504-509.
- Waide RB (1991) Summary of the Response of Animal Populations to Hurricanes in the Caribbean. *Biotropica*, **23**, 508-512.
- Waide RB (1992) Summary of the response of animal populations to hurricanes in the Caribbean. *Biotropica*, **23**, 508-512.
- Waite TA, Vucetich J, Saurer T, Kroninger M, Vaughn E, Field K, Ibarguen S (2005) Minimizing extinction risk through genetic rescue. *Animal Biodiversity and Conservation*, **28**, 121-130.
- Walton K (2004) *The Ecology, Evolution and Natural History of the Endangered Carnivores of Cozumel Island, Mexico*. Tesis Doctoral en Filosofía. Universidad de Columbia. 167 pp.
- Wan Qiu-Hong, Wu H, Fujihara T, Sheng-Guo Fang (2004) Which genetic marker for which conservation genetics issue? *Electrophoresis*, **25**, 2165-2176.
- Wang Y, Williams DA, Gaines MS (2005) Evidence for a recent genetic bottleneck in the endangered Florida Keys silver rice rat (*Oryzomys argentatus*) revealed by microsatellite DNA analyses. *Conservation Genetics*, **6**, 575-585.
- Wang Y, Hughes CR, Gines-Candelaria EA, Gaines MS (2000) Polymorphic microsatellite loci of *Oryzomys palustris*, the marsh rice rat, in South Florida detected by silver staining. *Molecular Ecology*, **9**, 1931-1932.
- Waples RS (2006) A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked loci. *Conservation Genetics*, **7**, 167-184.
- Weber DS, Stewart BS, Lehman N (2004) Genetic Consequences of a Severe Population Bottleneck in the Guadalupe Fur Seal (*Arctocephalus townsendi*). *Journal of Heredity*, **95**, 144-153.
- Weir BS, Cockerham C (1984) Estimating f-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- White TA, Searle JB (2007) Genetic diversity and population size: island populations of the common shrew, *Sorex araneus*. *Molecular Ecology*, **16**, 2005-2016.

- Whitehouse AM, Harley EH (2001) Post-bottleneck genetic diversity of elephant populations in South Africa, revealed using microsatellite analysis. *Molecular Ecology*, **10**, 2139–2149.
- Whitlock MC (2011) G'_{ST} and D do not replace F_{ST} . *Molecular Ecology*, **20**, 1083–1091.
- Whittaker RJ, Fernández-Palacios JM (2007) *Island biogeography: Ecology, Evolution and Conservation*. Segunda edición, Ed. Oxford University, UK.
- Williams DA, Wang Y, Borchetta M, Gaines MS (2007) Genetic diversity and spatial structure of a keystone species in fragmented pine rockland habitat. *Biological Conservation*, **138**, 256–268.
- Williamson MH (1981) *Island population*. Oxford University Press. UK. 286 pp.
- Willig C, McGinley (1999) Chapter 27: The response of animals to disturbance and their roles in patch generation. En: *Ecosystem of disturbed Ground*. Walker LR (Ed). Elsevier Science, Amsterdam.
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, **15**, 323–354.
- Yoshino H, Armstrong KN, Izawa M, Yokoyama J, Kawata M (2008) Genetic and acoustic population structuring in the Okinawa least horseshoe bat: are intercolony acoustic differences maintained by vertical maternal transmission? *Molecular Ecology*, **17**, 4978–4991.
- Zenger KR, Richardson BJ, Vachot-Griffin AM (2003) A rapid population expansion retains genetic diversity within European rabbits in Australia. *Molecular Ecology*, **12**, 789–794.
- Zhang H, Zhang Z (2008) Endocarp thickness affects seed removal speed by small rodents in a warm-temperate broad-leaved deciduous forest, China. *Acta Oecologica*, **34**, 285–293.

ANEXOS

ANEXO 1. Extracción de ADN con el kit de extracción *QuickGene DNA tissue kit S – Mini 80* de FUJI FILM Life Science.

El procedimiento que se describe a continuación fue modificado del protocolo inicial que establece el proveedor (*FujiFilm Life Sciences*), especialmente para procesar muestras pequeñas:

1. Cortar en pedazos pequeños la muestra de tejido y colocar en un tubo eppendorf de 1.5 ml previamente esterilizado y rotulado.
2. Añadir a cada tubo **50 µl de solución de lisis MDT** del kit y entre **8 y 10 µl de proteinasa K EDT**.
3. Mezclar con el vortex los tubos por unos segundos
4. Incubar a 55 °C por 6-8 horas (puede ser por toda la noche). Si es posible, vortexear los tubos durante la incubación periódicamente. Al terminar la incubación, vortexear nuevamente los tubos (se puede continuar con los pasos siguientes si quedan restos pardos transparentes de tejidos en los tubos o si el líquido se ve turbio).
5. Centrifugar a 10 000 RPM, durante 3 ó 4 min a temperatura ambiente (la temperatura de la centrifuga puede variar).
6. Transferir el sobrenadante a un tubo eppendorf de 1.5 mL nuevo ya rotulado. Si partes del pellet se vierten con el sobrenadante, centrifugar una vez más por 1 min.
7. Añadir **50 de µl solución de lisis LDT**.
8. Mezclar abundantemente en el vórtex durante 15 s. Luego, hacer un breve toque de spín.
9. Incubar en el termoblock a 70 °C por 10 min. Después, hacer un breve toque de spín.
10. Añadir **70 µl de etanol** al 96% (v/v) o etanol absoluto.
11. Mezclar abundantemente en el vórtex durante 15 s. Después hacer un breve toque de spin. El lisado se ha obtenido.
12. Para el lavado y la obtención del ADN se colocan las columnas con filtro en un presurizador (una por muestra) y cubetas colectoras para los restos del lavado.
13. Verter cada lisado en una columna diferente (asegurarse de que se ha vertido completamente). Realizar presurización 1.
14. Agregar a cada columna **250 µl de buffer de lavado WDT** y realizar presurización 2.
15. Repetir paso 14 dos veces (lavado-presurización 3; lavado-presurización 4).
16. Colocar bajo cada columna en el área de elución un tubo eppendorf de 1.5 mL nuevo y rotulado, en el mismo orden en el que se vertieron los lisados.
17. Agregar a cada columna entre **50 y 100 µl del buffer de elución CDT**, esperar ~90 s y realizar presurización. Este paso puede realizarse dos veces (dependiendo de la cantidad y concentración que se requiera) y es recomendable asegurarse que no ha quedado líquido en la columna, de lo contrario, puede realizarse otra presurización hasta que se haya colectado todo el líquido.
18. Almacenar las muestras del ADN obtenido a 4°C o de -20 a -80 °C si es por un tiempo largo.

ANEXO 2. Geles de agarosa.

Para visualizar productos en geles de agarosa:

1. Agregar agarosa, el buffer TBE al 0.5X y pH 8.0 y calentar hasta que la agarosa se disuelva por completo.
2. Dejar enfriar la mezcla hasta que se tolere tocar el recipiente con la mano y añadir bromuro de etidio al 0.5 µg/ml.
3. Verter la mezcla en la charola y colocar los peines para formar los pozos. Dejar que solidifique.
4. Cargar los geles con 5 µl de muestra (3 µl de loading buffer un frente y 2 µl de muestra). Destinar un pozo de cada fila para cargar el marcador de peso molecular adecuado.
5. Correr el gel en cámaras de electroforesis con buffer TBE a la misma concentración (0.5x y pH 8.0), a 120 V y durante 35-45 minutos.
6. El gel puede entonces visualizarse bajo luz ultravioleta de alta intensidad (480 nm). En este caso se utilizó el transiluminador *High Performance Ultraviolet Transilluminator (UVP)* y el programa *Launch VisionWorks®LS Analysis Software* para tomar fotografías y tener el registro.

Para visualizar ADN después de su extracción los geles se preparan al 1% de agarosa y se utiliza como marcador lambda de 5, 10 y 25 ng/µl; para productos de PCR se preparan al 1.5% de agarosa y se utiliza marcador de peso molecular VC 100bp Plus DNA Ladder (Vivantis®).

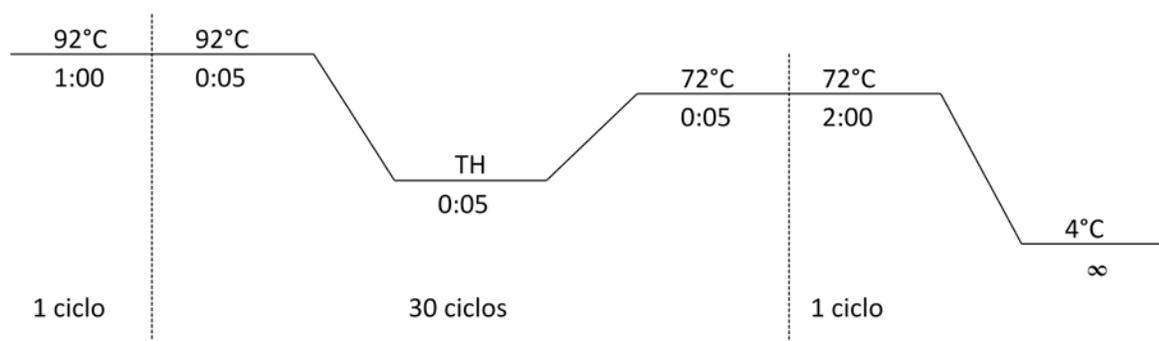
ANEXO 3. Condiciones de amplificación para cada microsatélite mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

O. c. cozumelae

1. Microsatélites utilizados

Locus	Motivo	Tamaño (pb)	Fluorescencia	Temp de hibridación (TH)
Ory03	(AAT)16	125-143	FAM	55
Ory21	(AAT)16	184-199	HEX	
Ory28	(AAT)16	70-112	FAM	
Ory40	(AAT)13	148-175	TAMN	
Ory10	(AAT)14	124-148	HEX	53
Ory60	(AAT)11	130-181	FAM	
Ory16	(AAT)11	94-125	HEX	50
Ory26	(AAT)13	97-141	FAM	
Ory64	(AAT)11	74-95	FAM	

2. Condiciones de la reacción



3. Concentraciones

Primer	ory03, ory 10 y ory64		ory16 y ory26		ory28		ory21		ory40		ory60	
	Concentración final	µl	Concentración final	µl	Concentración final	µl	Concentración final	µl	Concentración final	µl	Concentración final	µl
H2O		1.5		1.45		1.4		1.6		1.05		1
MgCl2 (mM)	3	0.3	3.5	0.35	4	0.4	2	0.2	3.5	0.35	4	0.4
Buffer (X)	1	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.5
dNTP's (mM)	0.2	0.5	0.2	0.5	0.2	0.5	0.2	0.5	0.2	0.5	0.2	0.5
PF (µM)	0.6	0.3	0.6	0.3	0.6	0.3	0.6	0.3	1	0.5	1	0.5
PR (µM)	0.6	0.3	0.6	0.3	0.6	0.3	0.6	0.3	1	0.5	1	0.5
BSA (10 mg/ml)	1	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.5
Taq (U/µl)	5	0.1	5	0.1	5	0.1	5	0.1	5	0.1	5	0.1
TOTAL		5		5		5		5		5		5

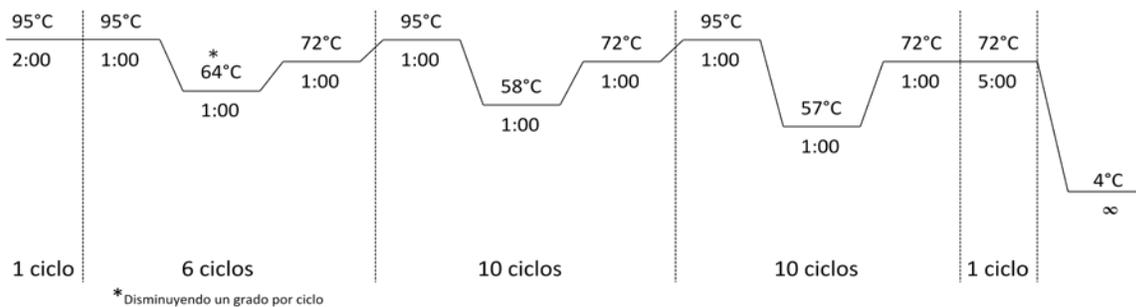
Reithrodontomys spectabilis

1. Microsatélites utilizados

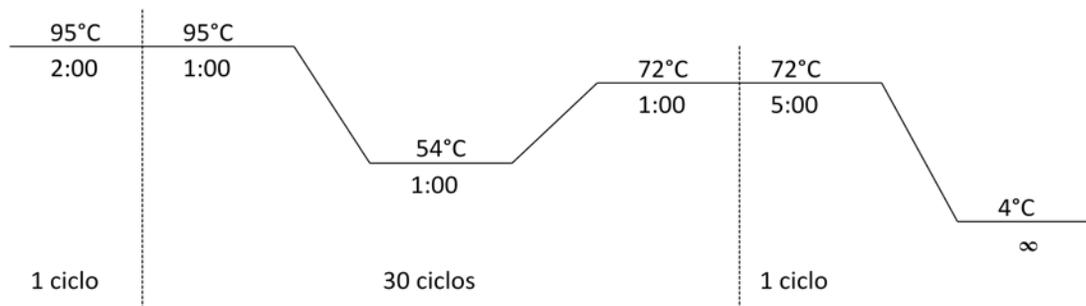
Locus	Motivo	Tamaño (pb)	Fluorescencia	Tipo de reacción
mexr16	(TG)17	172-196	FAM	Touchdown
mexr19	(GT)22	276-330	FAM	Touchdown
mexr20	(TG)25	245-283	FAM	Touchdown
mexr22	(AC)24	274-296	HEX	Touchdown
mexr23	(TG)8	119-129	FAM	Touchdown
mexr12	(TG)22	233-271	HEX	Simple, TH= 54°C
mexr32	(CA)20	234	HEX	Touchdown
mexr33	(TG)25	170-190	FAM	Touchdown
mexr34	(GT)23	202-274	HEX	Touchdown
mexr13	(TG)21	211-245	HEX	Simple, TH= 54°C

2. Condiciones de la reacción

Touchdown



Simple



3. Concentraciones

Primer	mexr16, mexr19, mexr20, mexr22, mmexr23, mexr12, mexr33, mexr34, mexr13		mexr32	
Reactivo	Concentración final		Concentración final	μl
H2O				2.25
MgCl2 (mM)	1.5		2	0.2
Buffer (X)	1		1	0.5
dNTP's (mM)	0.2		0.2	0.5
PF (μM)	0.5		0.9	0.45
PR (μM)	0.5		0.9	0.45
Taq (U/μl)	5		5	0.1
TOTAL		5		5

Anexo 4. Valores de p y S.E. obtenidos de la prueba de desequilibrio de ligamiento con GENEPOP para todas las combinaciones de loci posible de *R. spectabilis*. En negritas se observan los valores de $p \leq 0.05$ (*valor significativo después de la corrección de Bonferroni).

Pares de loci		Clusters								CONJUNTO	
		1		2		3		4		P	S.E
		P	S.E								
mexr16	mexr34	1	0	0.0188	0.0026	1	0	0.1095	0.0201	0*	0
mexr19	mexr12	0.0710	0.0171	1	0	1	0	0.0236	0.0097	0*	0
mexr20	mexr23	0.0996	0.0033	0.7063	0.0066	0.009	0.0008	0.2884	0.0125	0.0030	0.0020
mexr12	mexr13	0.1234	0.0209	0.3585	0.0158	1	0	0.4489	0.0332	0.0119	0.0073
mexr16	mexr33	0.4440	0.0277	0.6142	0.0120	0.8057	0.0187	0.378	0.0299	0.0208	0.0081
mexr12	mexr33	0.2769	0.0248	0.4320	0.0144	0.5842	0.0246	0.1360	0.0208	0.0270	0.0092
mexr22	mexr23	0.4418	0.0063	0.4040	0.0065	0.7877	0.0037	0.1401	0.0083	0.0368	0.0076
mexr20	mexr12	0.0054	0.0050	0.0985	0.0114	1	0	0.3340	0.0317	0.0382	0.0131
mexr12	mexr34	0.5106	0.0267	0.5584	0.0113	0.0618	0.0110	0.5898	0.0304	0.0383	0.0124
mexr19	mexr33	0.1729	0.0226	0.2283	0.0111	0.5064	0.0277	0.3582	0.0292	0.0671	0.0169
mexr22	mexr33	0.3094	0.0266	0.3263	0.0114	0.3749	0.0183	0.1258	0.0201	0.0745	0.0165
mexr22	mexr12	0.1855	0.0244	1	0	0.2995	0.0205	0.2922	0.0298	0.0797	0.0182
mexr20	mexr13	0.1182	0.0203	0.2787	0.0173	0.0081	0.0054	0.3502	0.0324	0.0864	0.0197
mexr19	mexr20	0.0167	0.0070	0.2404	0.0170	1	0	0.5551	0.0333	0.1053	0.0214
mexr19	mexr13	0.0532	0.0142	0.6549	0.0148	1	0	0.5979	0.0322	0.1079	0.0217
mexr33	mexr34	0.3040	0.0199	0.9696	0.0027	0.0142	0.0052	0.1851	0.0227	0.1531	0.0231
mexr19	mexr22	0.1001	0.0198	0.1768	0.0097	0.1668	0.0186	0.6637	0.0311	0.1795	0.0269
mexr16	mexr23	0.3945	0.0070	0.9803	0.0015	0.9171	0.0025	0.7105	0.0120	0.2320	0.0189
mexr16	mexr20	0.1817	0.0250	0.1763	0.0142	0.1171	0.0166	1	0	0.2344	0.0294
mexr23	mexr12	0.1959	0.0048	0.0595	0.0028	0.3005	0.0045	0.8805	0.0065	0.2798	0.0184
mexr34	mexr13	1	0	0.2471	0.0110	1	0	1	0	0.3175	0.0319
mexr23	mexr33	0.7965	0.0037	0.2159	0.0055	0.8784	0.0031	0.5205	0.0106	0.3744	0.0180
mexr16	mexr12	0.2194	0.0263	0.24	0.014	1	0	1	0	0.3800	0.0339
mexr20	mexr33	0.2832	0.0265	0.2996	0.0148	0.7182	0.0222	0.3453	0.0289	0.4087	0.0333
mexr16	mexr13	0.1292	0.0216	0.0835	0.0080	1	0	1	0	0.5083	0.0349
mexr19	mexr23	0.3617	0.0088	0.8928	0.0040	0.4796	0.0079	0.0818	0.0085	0.5286	0.0217
mexr16	mexr19	0.1052	0.0198	0.5091	0.0141	1	0	1	0	0.5528	0.0347
mexr19	mexr34	1	0	0.8993	0.0059	1	0	0.8330	0.0238	0.5925	0.0337
mexr20	mexr22	0.1513	0.0233	1	0	0.8412	0.0153	0.4585	0.0340	0.6745	0.0321
mexr23	mexr13	0.9115	0.0028	0.6342	0.0070	1	0	0.5323	0.0142	0.7630	0.0177
mexr16	mexr22	0.0899	0.0180	1	0	0.8504	0.0137	1	0	0.7901	0.0282
mexr22	mexr13	0.1726	0.0246	0.6924	0.0108	1	0	1	0	0.8183	0.0269
mexr20	mexr34	1	0	0.4217	0.0144	1	0	1	0	0.8706	0.0227
mexr23	mexr34	0.6331	0.0044	0.9299	0.0023	0.8090	0.0046	0.5929	0.0115	0.9147	0.0089
mexr22	mexr34	1	0	0.9385	0.0041	0.1870	0.0164	1	0	0.9279	0.0167
mexr33	mexr13	0.2489	0.0249	0.7376	0.0117	0.466	0.0291	1	0	0.9523	0.0133

Anexo 5. Valores de p y D.E. para diferenciación alélica (a) y genotípica (b) entre pares de grupos de *R. spectabilis* obtenidos con GENEPOP. Se muestran en negritas los valores significativos ($p < 0.05$ con corrección de Bonferroni).

a)

LOCUS	Par de grupos											
	1 y 2		1 y 3		2 y 3		1 y 4		2 y 4		3 y 4	
	P	S.E.	P	S.E.	P	S.E.	P	S.E.	P	S.E.	P	S.E.
mexr16	0.0007	0.0002	0.2425	0.0051	0.00004	0.00003	0.1008	0.0036	0.0002	0.0001	0.0002	0.0001
mexr19	0.0061	0.0008	0.00004	0.00004	0	0	0.0010	0.0003	0	0	0.0002	0.0001
mexr20	0.00004	0.00003	0.0001	0.0001	0.0274	0.0018	0.0185	0.0017	0.0169	0.0015	0.4617	0.007
mexr22	0	0	0	0	0.0016	0.0004	0.0003	0.0001	0.0759	0.0031	0.0080	0.0009
mexr23	0.0004	0.0001	0.7507	0.0012	0.00003	0.00002	0.3065	0.0028	0.00002	0.00001	0.3447	0.0024
mexr12	0.0001	0.00004	0	0	0.0066	0.0007	0	0	0	0	0	0
mexr33	0.0015	0.0004	0.0066	0.0008	0.0001	0.0001	0.0007	0.0004	0	0	0.7720	0.0046
mexr34	0	0	0	0	0.3167	0.0045	0.0001	0.0001	0.0318	0.0022	0.0667	0.0038
mexr13	0.0001	0.00004	0.0179	0.0015	0.0006	0.0002	0.0004	0.0002	0.0315	0.0021	0.00001	0
TODOS	Highly sign		Highly sign		Highly sign		Highly sign		Highly sign		Highly sign	

b)

LOCUS	Par de grupos											
	1 y 2		1 y 3		2 y 3		1 y 4		2 y 4		3 y 4	
	P	S.E.	P	S.E.	P	S.E.	P	S.E.	P	S.E.	P	S.E.
mexr16	0.0012	0.0003	0.3019	0.0055	0.0003	0.0001	0.1270	0.0043	0.0001	0.00004	0.0006	0.0002
mexr19	0.0056	0.0008	0.0001	0.0001	0	0	0.0014	0.0004	0.0002	0.0001	0.0006	0.0003
mexr20	0.0002	0.0008	0.0002	0.0001	0.0349	0.0018	0.0155	0.0013	0.0173	0.0014	0.4199	0.006
mexr22	0	0	0.0002	0.0001	0.0029	0.0004	0.0004	0.0002	0.0687	0.0031	0.0073	0.0008
mexr23	0.0004	0.0001	0.7318	0.0012	0.00003	0.00002	0.2812	0.0023	0.0001	0.00003	0.3191	0.0024
mexr12	0.0004	0.0002	0	0	0.0119	0.001	0	0	0	0	0	0
mexr33	0.0007	0.0002	0.0037	0.0005	0	0	0.0003	0.0002	0	0	0.7196	0.0043
mexr34	0.00004	0.0001	0	0	0.2738	0.0044	0.0002	0.0001	0.0395	0.0019	0.0594	0.0025
mexr13	0.0001	0.0001	0.0151	0.0012	0.0009	0.0002	0.00002	0.00002	0.0198	0.0014	0	0
TODOS	Highly sign		Highly sign		Highly sign		Highly sign		Highly sign		Highly sign	

ANEXO 6. Frecuencias alélicas de las poblaciones de *O. c. cozumelae*. En amarillo se resaltan alelos exclusivos por población.

LOCUS	ALELO	Pre-huracán	Post-huracán	2011
ORY03	109	0.005	0.000	0.000
	112	0.011	0.000	0.050
	118	0.084	0.012	0.050
	121	0.200	0.129	0.150
	124	0.447	0.241	0.450
	127	0.205	0.600	0.250
	130	0.032	0.018	0.000
	133	0.011	0.000	0.050
	136	0.005	0.000	0.000
	130	0.026	0.000	0.000
ORY10	133	0.137	0.082	0.000
	136	0.005	0.018	0.200
	145	0.032	0.029	0.000
	148	0.005	0.024	0.000
	151	0.032	0.041	0.050
	157	0.000	0.006	0.000
	160	0.005	0.006	0.000
	163	0.000	0.012	0.000
	166	0.247	0.200	0.150
	169	0.168	0.253	0.050
	172	0.089	0.147	0.350
	175	0.163	0.106	0.150
	178	0.063	0.041	0.000
	181	0.021	0.012	0.000
	184	0.005	0.012	0.000
	187	0.000	0.000	0.050
	190	0.000	0.006	0.000
	196	0.000	0.006	0.000
ORY16	82	0.000	0.029	0.000
	85	0.005	0.006	0.000
	88	0.174	0.300	0.250
	91	0.021	0.006	0.000
	94	0.384	0.382	0.350
	97	0.063	0.047	0.000
	100	0.042	0.012	0.000
	103	0.205	0.188	0.200
	106	0.053	0.006	0.150
	109	0.016	0.006	0.050

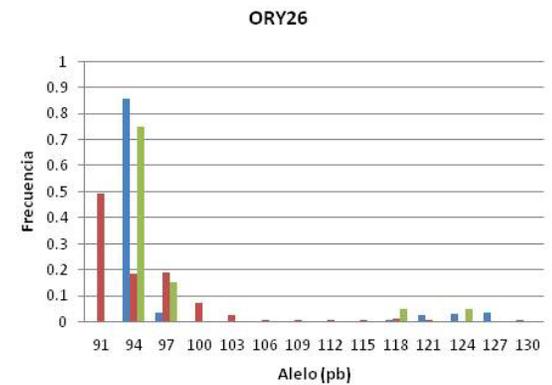
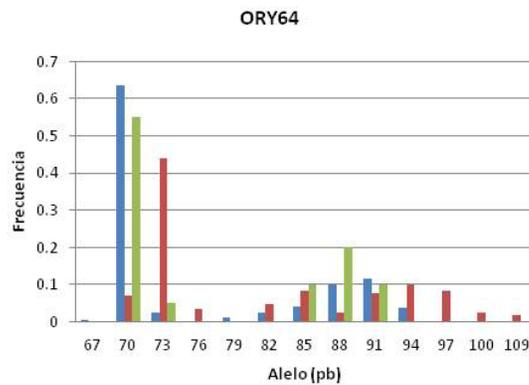
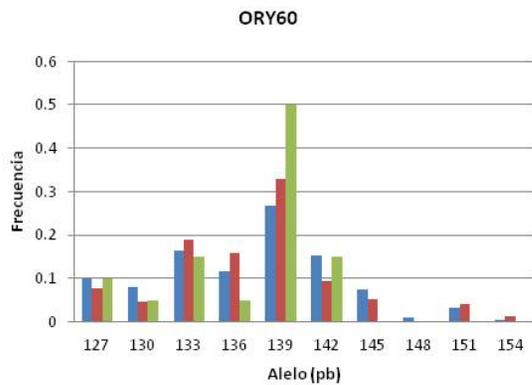
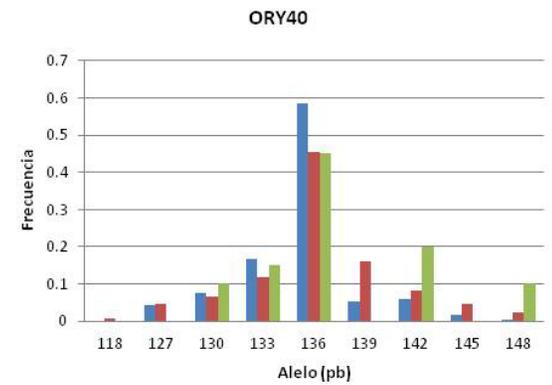
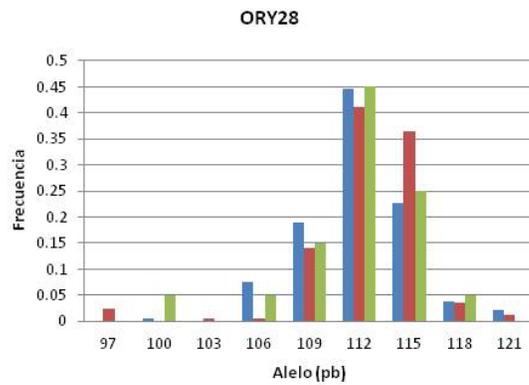
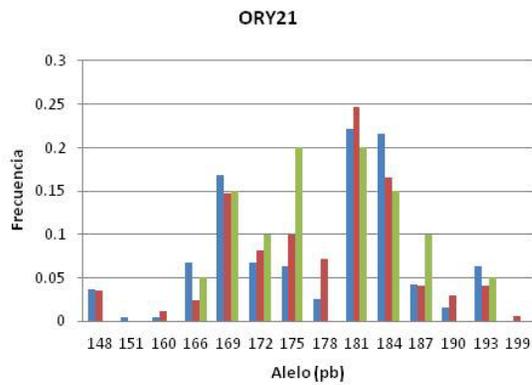
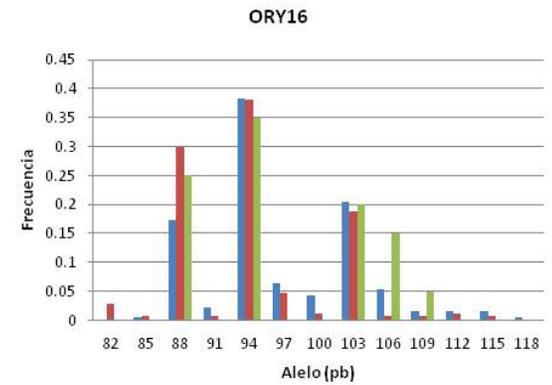
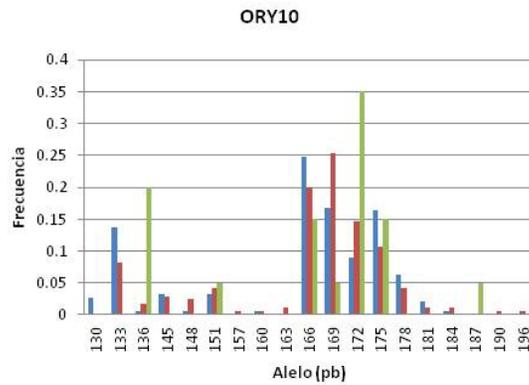
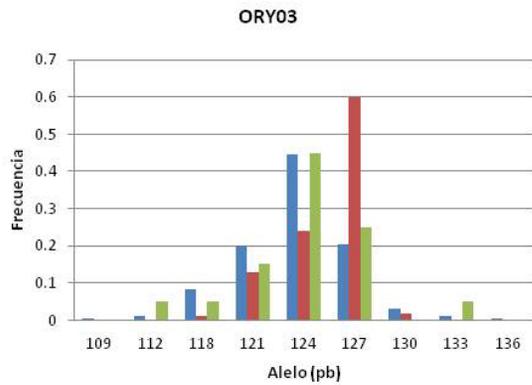
(continúa)

LOCUS	ALELO	Pre-huracán	Post-huracán	2011
ORY21	112	0.016	0.012	0.000
	115	0.016	0.006	0.000
	118	0.005	0.000	0.000
	148	0.037	0.035	0.000
	151	0.005	0.000	0.000
	160	0.005	0.012	0.000
	166	0.068	0.024	0.050
	169	0.168	0.147	0.150
	172	0.068	0.082	0.100
	175	0.063	0.100	0.200
ORY28	178	0.026	0.071	0.000
	181	0.221	0.247	0.200
	184	0.216	0.165	0.150
	187	0.042	0.041	0.100
	190	0.016	0.029	0.000
	193	0.063	0.041	0.050
	199	0.000	0.006	0.000
	97	0.000	0.024	0.000
	100	0.005	0.000	0.050
	103	0.000	0.006	0.000
ORY40	106	0.074	0.006	0.050
	109	0.189	0.141	0.150
	112	0.447	0.412	0.450
	115	0.226	0.365	0.250
	118	0.037	0.035	0.050
	121	0.021	0.012	0.000
	118	0.000	0.006	0.000
	127	0.042	0.047	0.000
	130	0.074	0.065	0.100
	133	0.168	0.118	0.150
ORY60	136	0.584	0.453	0.450
	139	0.053	0.159	0.000
	142	0.058	0.082	0.200
	145	0.016	0.047	0.000
	148	0.005	0.024	0.100
	127	0.100	0.076	0.100
	130	0.079	0.047	0.050
	133	0.163	0.188	0.150

(continúa)

LOCUS	ALELO	Pre-huracán	Post-huracán	2011
ORY64	136	0.116	0.159	0.050
	139	0.268	0.329	0.500
	142	0.153	0.094	0.150
	145	0.074	0.053	0.000
	148	0.011	0.000	0.000
	151	0.032	0.041	0.000
	154	0.005	0.012	0.000
	67	0.005	0.000	0.000
	70	0.637	0.071	0.550
	73	0.026	0.441	0.050
ORY26	76	0.000	0.035	0.000
	79	0.011	0.000	0.000
	82	0.026	0.047	0.000
	85	0.042	0.082	0.100
	88	0.100	0.024	0.200
	91	0.116	0.076	0.100
	94	0.037	0.100	0.000
	97	0.000	0.082	0.000
	100	0.000	0.024	0.000
	109	0.000	0.018	0.000
ORY26	91	0.000	0.494	0.000
	94	0.858	0.182	0.750
	97	0.037	0.188	0.150
	100	0.000	0.071	0.000
	103	0.000	0.024	0.000
	106	0.000	0.006	0.000
	109	0.000	0.006	0.000
	112	0.000	0.006	0.000
	115	0.000	0.006	0.000
	118	0.005	0.012	0.050
ORY26	121	0.026	0.006	0.000
	124	0.032	0.000	0.050
	127	0.037	0.000	0.000
	130	0.005	0.000	0.000

Gráficos de las frecuencias alélicas de las poblaciones pre-huracán (azul), post-huracán (rojo) y 2011 (verde) de *O. c. cozumelae*.



ANEXO 7. Frecuencias genotípicas de las poblaciones de *O. c. cozumelae* (Se resaltan en color naranja los genotipos homocigos).

LOCUS	GENOTIPO		Pre-huracán	Post-huracán	2011
ORY03	118	118	3	0	0
	118	121	3	1	0
	121	121	3	0	0
	112	124	2	0	1
	118	124	6	0	0
	121	124	19	8	0
	124	124	22	1	3
	109	127	1	0	0
	118	127	1	1	1
	121	127	9	13	3
	124	127	12	30	1
	127	127	6	28	0
	121	130	1	0	0
	124	130	1	1	0
	127	130	3	2	0
	124	133	0	0	1
	127	133	1	0	0
	130	133	1	0	0
124	136	1	0	0	
ORY10	130	133	2	0	0
	133	136	0	1	0
	136	136	0	0	1
	133	151	2	2	0
	133	160	0	1	0
	145	163	0	1	0
	133	166	9	6	0
	136	166	0	1	0
	145	166	1	0	0
	148	166	1	0	0
	151	166	2	1	0
	160	166	1	0	0
	166	166	3	1	0
	133	169	4	1	0
	136	169	1	1	0
	145	169	1	3	0
	148	169	0	3	0
	151	169	0	3	0
	163	169	0	1	0
	166	169	11	10	1
	169	169	0	4	0
130	172	1	0	0	
133	172	3	3	0	

(continúa)

LOCUS	GENOTIPO		Pre-huracán	Post-huracán	2011	
	136	172	0	0	1	
	145	172	1	1	0	
	148	172	0	1	0	
	157	172	0	1	0	
	166	172	5	4	1	
	169	172	4	5	0	
	172	172	0	2	2	
	130	175	2	0	0	
	133	175	4	0	0	
	136	175	0	0	1	
	145	175	2	0	0	
	151	175	0	1	1	
	166	175	7	4	0	
	169	175	8	7	0	
	172	175	0	6	1	
	175	175	3	0	0	
	133	178	2	0	0	
	151	178	2	0	0	
	166	178	3	4	0	
	169	178	1	1	0	
	172	178	3	0	0	
	175	178	1	0	0	
	178	178	0	1	0	
	145	181	1	0	0	
	169	181	2	0	0	
	175	181	1	0	0	
	166	184	1	2	0	
	166	187	0	0	1	
	181	190	0	1	0	
	181	196	0	1	0	
	ORY16	82	82	0	1	0
		82	88	0	1	0
85		88	0	1	0	
88		88	2	0	0	
88		91	0	1	0	
82		94	0	2	0	
85		94	1	0	0	
88		94	17	36	3	
91		94	4	0	0	
94		94	12	4	1	
88		97	0	3	0	
94		97	4	4	0	
88		100	1	0	0	
94	100	1	2	0		

(continúa)

LOCUS	GENOTIPO		Pre-huracán	Post-huracán	2011
	97	100	2	0	0
	88	103	8	8	0
	94	103	16	10	2
	97	103	4	1	0
	100	103	3	0	0
	103	103	1	6	0
	88	106	3	0	2
	94	106	2	0	0
	103	106	5	1	1
	94	109	2	1	0
	97	109	1	0	0
	103	109	0	0	1
	88	112	0	1	0
	94	112	1	1	0
	100	112	1	0	0
	103	112	1	0	0
	94	115	1	1	0
	97	115	1	0	0
	115	118	1	0	0
	ORV21	160	160	0	1
148		169	2	1	0
151		169	1	0	0
160		169	1	0	0
166		169	1	3	0
169		169	3	2	0
148		172	0	1	0
166		172	4	0	0
169		172	2	0	0
172		172	1	1	0
148		175	1	1	0
166		175	1	0	0
169		175	1	4	2
172		175	0	2	0
175		175	2	1	0
148		178	0	1	0
166		178	2	1	0
169		178	1	1	0
172		178	0	3	0
175		178	1	2	0
148		181	1	0	0
166		181	1	0	0
169		181	10	6	1
172		181	1	3	1
175		181	0	4	1

(continúa)

LOCUS	GENOTIPO		Pre-huracán	Post-huracán	2011	
	178	181	0	3	0	
	181	181	5	4	0	
	148	184	3	2	0	
	166	184	3	0	1	
	169	184	4	3	0	
	172	184	2	1	0	
	175	184	3	2	1	
	178	184	0	1	0	
	181	184	10	12	0	
	184	184	6	2	0	
	166	187	1	0	0	
	169	187	0	2	0	
	172	187	0	0	1	
	175	187	1	0	0	
	178	187	1	0	0	
	181	187	3	2	1	
	184	187	2	2	0	
	169	190	1	0	0	
	172	190	1	1	0	
	181	190	1	0	0	
	190	190	0	2	0	
	169	193	2	1	0	
	172	193	1	1	0	
	181	193	5	4	0	
	184	193	2	0	1	
	187	193	0	1	0	
	193	193	1	0	0	
	184	199	0	1	0	
	ORY28	97	97	0	2	0
		106	106	1	0	0
106		109	3	0	0	
109		109	1	2	0	
100		112	1	0	1	
106		112	6	1	0	
109		112	20	9	0	
112		112	21	15	3	
103		115	0	1	0	
106		115	2	0	1	
109		115	10	10	3	
112		115	12	27	1	
115		115	7	11	0	
106		118	1	0	0	
109		118	0	1	0	
112	118	1	2	1		

(continúa)

LOCUS	GENOTIPO		Pre-huracán	Post-huracán	2011
	115	118	5	2	0
	109	121	1	0	0
	112	121	3	1	0
	118	121	0	1	0
ORY40	127	130	1	0	0
	130	130	0	1	0
	127	133	1	3	0
	130	133	1	0	0
	133	133	4	0	0
	127	136	6	3	0
	130	136	12	8	1
	133	136	21	14	2
	136	136	27	17	2
	130	139	0	1	0
	133	139	1	1	0
	136	139	7	7	0
	139	139	1	7	0
	130	142	0	0	1
	133	142	0	2	0
	136	142	8	7	2
	142	142	1	2	0
	118	145	0	1	0
	127	145	0	1	0
	136	145	2	4	0
	139	145	0	2	0
	142	145	1	0	0
	127	148	0	1	0
	133	148	0	0	1
136	148	1	0	0	
139	148	0	2	0	
142	148	0	1	1	
ORY60	127	127	0	1	0
	127	130	1	1	0
	130	130	1	0	0
	127	133	2	0	1
	130	133	2	2	0
	133	133	1	0	0
	127	136	6	3	0
	130	136	3	0	0
	133	136	2	3	1
	136	136	1	1	0
	127	139	5	0	1
	130	139	6	3	1
	133	139	8	22	0

(continúa)

LOCUS	GENOTIPO		Pre-huracán	Post-huracán	2011
	136	139	7	12	0
	139	139	2	4	3
	127	142	4	4	0
	130	142	1	1	0
	133	142	7	4	1
	136	142	2	3	0
	139	142	10	4	2
	142	142	1	0	0
	127	145	1	1	0
	133	145	3	1	0
	136	145	0	3	0
	139	145	8	3	0
	142	145	2	0	0
	133	148	1	0	0
	139	148	1	0	0
	127	151	0	2	0
	130	151	0	1	0
	133	151	3	0	0
	136	151	0	1	0
	139	151	2	3	0
	142	151	1	0	0
	133	154	1	0	0
	139	154	0	1	0
	145	154	0	1	0
ORY64	70	70	38	3	2
	70	73	4	0	0
	73	73	0	23	0
	76	76	0	1	0
	70	82	2	0	0
	73	82	0	4	0
	82	82	1	0	0
	70	85	5	0	2
	73	85	0	10	0
	76	85	0	1	0
	79	85	2	0	0
	70	88	12	0	4
	76	88	0	1	0
	82	88	1	0	0
	85	88	1	0	0
	88	88	2	0	0
	70	91	18	3	1
	73	91	0	4	1
85	91	0	2	0	
88	91	1	1	0	

(continúa)

LOCUS	GENOTIPO		Pre-huracán	Post-huracán	2011
	91	91	1	1	0
	67	94	1	0	0
	70	94	4	1	0
	73	94	1	6	0
	76	94	0	1	0
	82	94	0	3	0
	85	94	0	1	0
	91	94	1	0	0
	94	94	0	1	0
	70	97	0	2	0
	73	97	0	5	0
	82	97	0	1	0
	88	97	0	2	0
	91	97	0	1	0
	94	97	0	2	0
	76	100	0	1	0
	94	100	0	1	0
	100	100	0	1	0
	97	109	0	1	0
	109	109	0	1	0
ORY26	91	91	0	17	0
	91	94	0	11	0
	94	94	69	2	6
	91	97	0	27	0
	94	97	7	5	2
	91	100	0	8	0
	94	100	0	4	0
	91	103	0	1	0
	94	103	0	3	0
	94	106	0	1	0
	94	109	0	1	0
	94	112	0	1	0
	91	115	0	1	0
	91	118	0	1	0
	94	118	1	1	1
	91	121	0	1	0
	94	121	4	0	0
	94	124	6	0	0
	97	124	0	0	1
	94	127	6	0	0
121	127	1	0	0	
94	130	1	0	0	

ANEXO 8. Frecuencias alélicas de las poblaciones de *R. spectabilis* (Se resaltan en amarillo los alelos exclusivos para cada cluster, en gris los alelos que se perdieron en la población post-huracán y en verde los alelos nuevos en la población post-huracán).

PRE-HURACÁN							
LOCUS	ALELO	1	2	3	4	CONJUNTO	
mexr16	172	0.048	0	0	0.071	0.039	
	174	0.048	0	0	0.114	0.056	
	176	0.048	0	0.087	0.029	0.044	
	178	0	0	0.022	0	0.006	
	180	0.357	0.091	0.391	0.157	0.256	
	182	0.143	0.182	0.13	0.229	0.178	
	184	0.024	0.045	0.065	0.186	0.1	
	186	0.119	0.227	0.065	0.057	0.094	
	188	0.048	0.045	0.174	0.014	0.067	
	190	0.095	0.045	0.043	0.057	0.061	
	192	0.071	0	0.022	0.057	0.044	
	194	0	0.364	0	0.014	0.05	
	196	0	0	0	0.014	0.006	
	276	0	0	0.022	0.1	0.044	
mexr19	308	0.024	0.091	0	0.014	0.022	
	310	0.048	0.045	0.043	0.3	0.144	
	312	0.31	0.045	0.043	0.129	0.139	
	314	0.143	0	0.283	0.071	0.133	
	316	0.095	0	0.065	0.029	0.05	
	318	0.071	0.045	0.022	0.029	0.039	
	320	0.048	0.136	0.065	0.057	0.067	
	322	0.048	0	0.065	0.014	0.033	
	324	0.024	0	0.283	0.129	0.128	
	326	0.143	0.364	0	0.043	0.094	
	328	0.048	0.227	0.043	0.086	0.083	
	330	0	0.045	0.065	0	0.022	
	mexr20	245	0.024	0	0	0	0.006
		247	0.024	0.273	0	0.029	0.05
249		0.119	0.227	0.261	0.171	0.189	
251		0.143	0.045	0.065	0.043	0.072	
253		0.024	0	0.043	0.029	0.028	
255		0	0.045	0.022	0	0.011	
257		0	0	0	0.014	0.006	
259		0	0	0.043	0.014	0.017	
265		0.071	0	0.043	0.043	0.044	
269		0.214	0	0.022	0.157	0.117	
271		0.19	0.091	0.13	0.143	0.144	
273		0	0.136	0.196	0.1	0.106	
275		0.024	0.091	0.13	0.171	0.117	
277		0.024	0.091	0	0.014	0.022	
279	0.048	0	0.022	0.043	0.033		

(continúa)

PRE-HURACÁN							
LOCUS	ALELO	1	2	3	4	CONJUNTO	
mexr22	281	0	0	0.022	0.029	0.017	
	283	0.095	0	0	0	0.022	
	274	0	0	0	0.014	0.006	
	276	0.071	0	0.022	0.043	0.039	
	278	0.119	0	0.065	0.029	0.056	
	280	0.119	0	0	0.043	0.044	
	282	0	0.182	0.087	0.157	0.106	
	284	0.119	0.045	0.348	0.171	0.189	
	286	0.19	0.318	0.391	0.171	0.25	
	288	0.095	0.227	0.022	0.086	0.089	
	290	0	0.227	0.043	0.129	0.089	
	292	0.214	0	0.022	0.071	0.083	
	294	0.024	0	0	0.086	0.039	
	296	0.048	0	0	0	0.011	
mexr23	119	0.857	0.409	0.891	0.843	0.806	
	127	0.143	0.591	0.109	0.114	0.178	
	129	0	0	0	0.043	0.017	
	233	0	0	0.022	0	0.006	
	235	0.024	0	0	0	0.006	
	247	0	0	0.087	0	0.022	
	249	0	0.045	0	0.014	0.011	
	251	0.238	0	0	0.057	0.078	
	253	0	0	0	0.129	0.05	
	255	0	0.045	0	0	0.006	
	mexr12	257	0.048	0.091	0.283	0.029	0.106
		259	0.262	0.318	0.174	0.043	0.161
		261	0.048	0.136	0.087	0.214	0.133
		263	0.167	0	0.109	0.257	0.167
265		0.095	0	0.087	0.171	0.111	
267		0.024	0.318	0.13	0.029	0.089	
269		0	0	0.022	0.057	0.028	
271		0.095	0.045	0	0	0.028	
mexr33		170	0	0	0.022	0	0.006
		172	0	0	0	0.014	0.006
		174	0.071	0	0.065	0.043	0.05
		176	0.071	0	0.239	0.157	0.139
		178	0.262	0.455	0.239	0.257	0.278
		180	0.071	0	0.217	0.329	0.2
	182	0.31	0.182	0.174	0.129	0.189	
	184	0.214	0.091	0.022	0.029	0.078	
	186	0	0.227	0.022	0.014	0.039	

(continúa)

PRE-HURACÁN						
LOCUS	ALELO	1	2	3	4	CONJUNTO
mexr34	190	0	0.045	0	0.029	0.017
	202	0	0	0	0.014	0.006
	204	0.024	0	0.043	0.129	0.067
	206	0.048	0.045	0.065	0.071	0.061
	208	0.214	0	0.13	0.114	0.128
	210	0.452	0.318	0.196	0.357	0.333
	212	0	0.364	0.304	0.1	0.161
	214	0.071	0.273	0.239	0.171	0.178
	216	0.143	0	0.022	0	0.039
	218	0.048	0	0	0	0.011
	222	0	0	0	0.014	0.006
	260	0	0	0	0.014	0.006
	274	0	0	0	0.014	0.006
	mexr13	211	0.119	0	0.13	0.014
213		0.048	0.045	0.13	0.029	0.061
215		0	0	0.174	0.029	0.056
217		0.119	0.318	0.087	0.371	0.233
219		0.167	0.091	0.043	0.114	0.106
221		0.024	0.273	0.13	0.014	0.078
223		0.119	0	0.065	0.029	0.056
225		0.143	0.136	0.043	0.1	0.1
227		0	0.136	0	0.043	0.033
229		0	0	0	0.029	0.011
231		0.024	0	0	0	0.006
233		0.024	0	0.022	0	0.011
235		0.071	0	0.065	0	0.033
237		0.143	0	0.065	0.043	0.067
239	0	0	0	0.1	0.039	
241	0	0	0.022	0.029	0.017	
243	0	0	0	0.029	0.011	
245	0	0	0.022	0.029	0.017	

POTABILIZADORA			
LOCUS	ALELO	PREHURACAN	POSTHURACAN
mexr16	172	0.1	0.083
	174	0.12	0.083
	176	0.02	0
	180	0.12	0.083
	182	0.14	0.125
	184	0.24	0.208
	186	0.04	0.208
	188	0.02	0
	190	0.1	0.208
	192	0.06	0
	194	0.02	0
	196	0.02	0
mexr19	276	0.1	0.042
	308	0.02	0.042
	310	0.3	0.208
	312	0.16	0.083
	314	0.06	0.042
	316	0.02	0
	318	0.04	0
	320	0.02	0.125
	322	0.02	0.042
	324	0.16	0.25
	326	0.02	0.167
	328	0.08	0
mexr20	249	0.18	0.042
	253	0.04	0.125
	257	0.02	0.125
	265	0.06	0
	267	0	0.042
	269	0.2	0.125
271	0.14	0.083	
273	0.1	0.042	

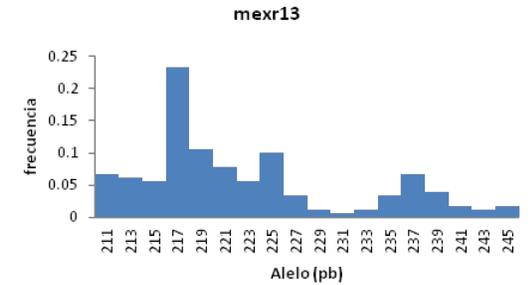
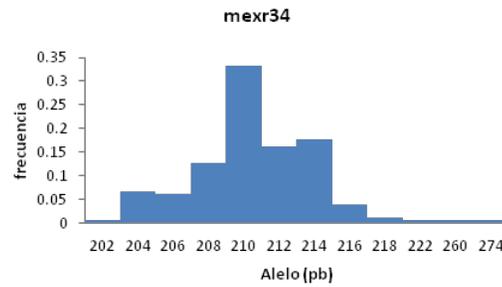
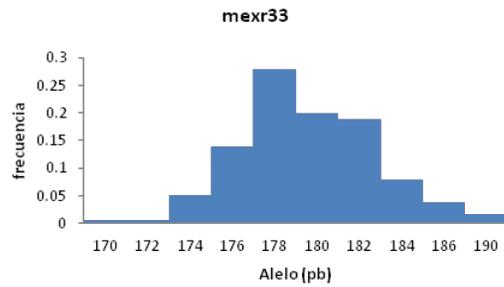
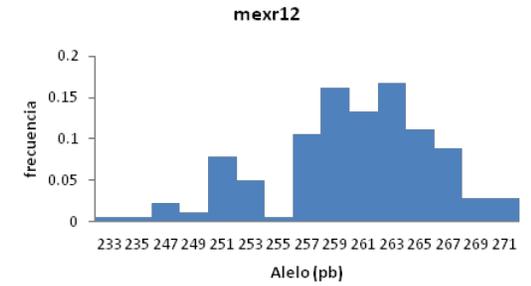
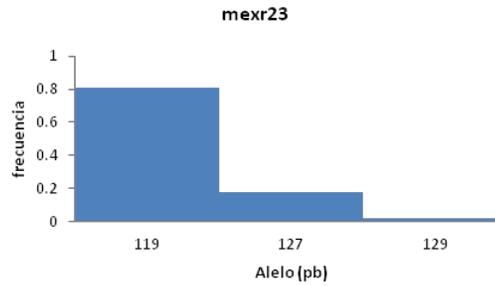
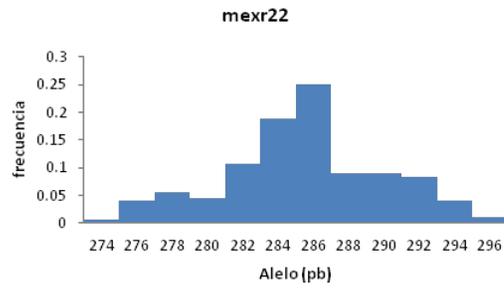
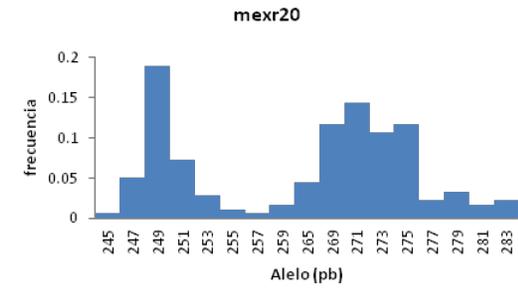
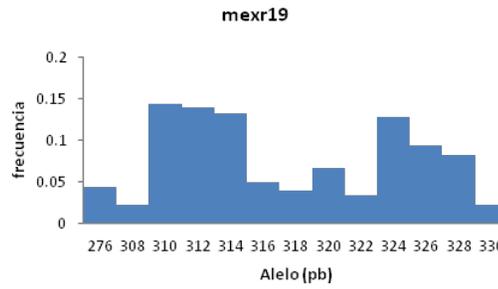
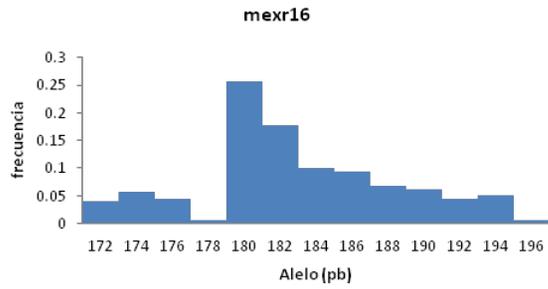
(continúa)

POTABILIZADORA			
LOCUS	ALELO	PREHURACAN	POSTHURACAN
mexr22	275	0.2	0.292
	279	0.04	0.083
	281	0.02	0
	283	0	0.042
	274	0	0.042
	276	0.04	0.083
	278	0.04	0
	280	0.02	0.042
	282	0.12	0.083
	284	0.16	0.25
	286	0.24	0.292
	288	0.12	0.042
mexr23	290	0.06	0.042
	292	0.08	0.125
	294	0.12	0
	119	0.92	0.917
	127	0.02	0.083
	129	0.06	0
mexr12	249	0.02	0.083
	251	0.06	0.125
	253	0.12	0
	257	0	0.042
	259	0.04	0
	261	0.24	0.208
	263	0.22	0.25
	265	0.16	0.167
	267	0.06	0.125
	269	0.08	0
	172	0.02	0
	mexr33	174	0.04
176		0.12	0.292
178		0.28	0.25

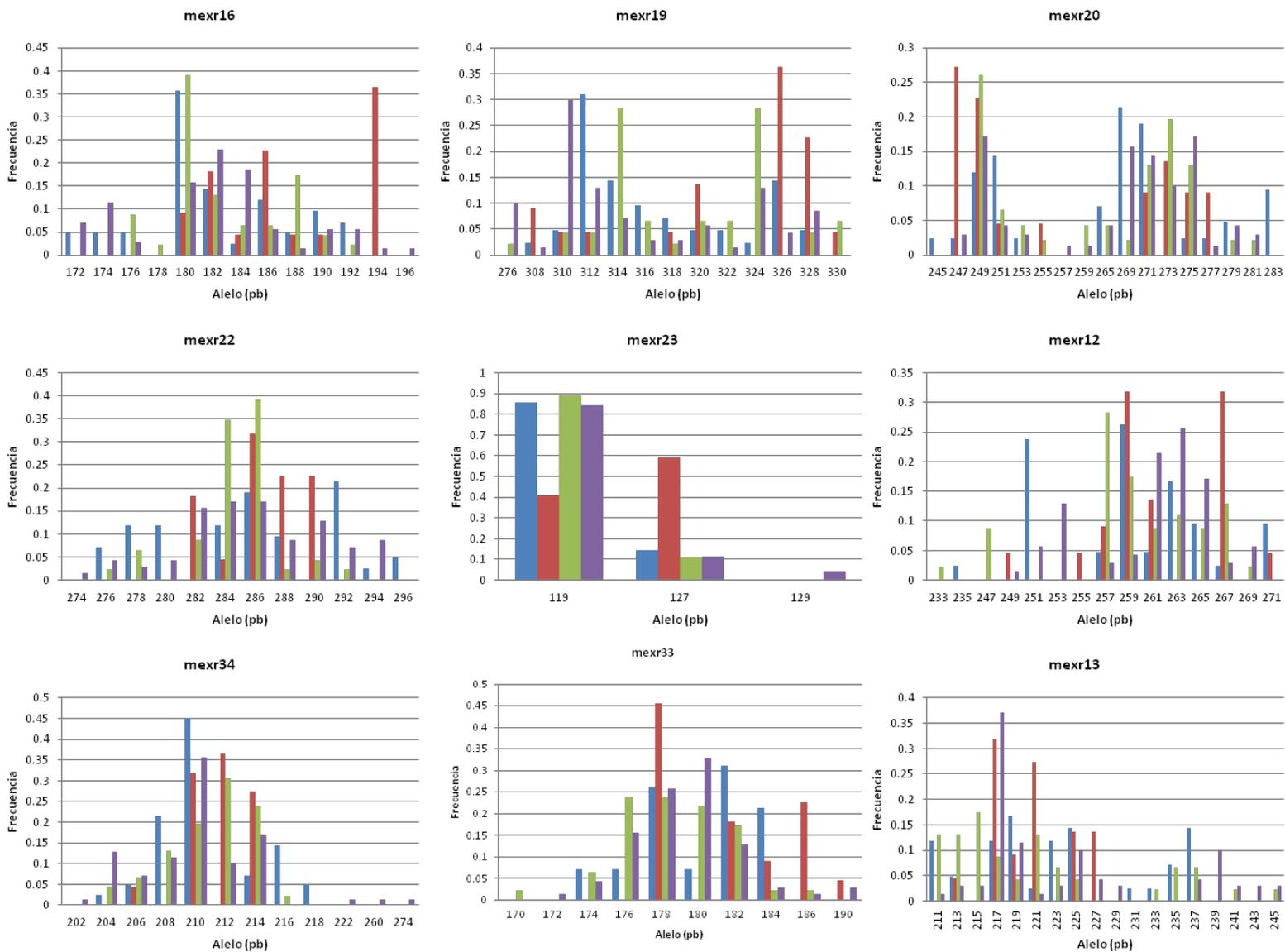
(continúa)

POTABILIZADORA			
LOCUS	ALELO	PREHURACAN	POSTHURACAN
mexr34	180	0.34	0.292
	182	0.12	0
	184	0.02	0.042
		0.02	0.083
	190	0.04	0
	204	0.16	0.208
mexr13	206	0.1	0.042
	208	0.12	0.083
	210	0.28	0.417
	212	0.16	0.125
	214	0.12	0.042
	216	0.02	0.042
	220	0	0.042
	260	0.02	0
	274	0.02	0
	211	0.02	0
	215	0.02	0.083
	217	0.4	0.375
219	0.14	0.208	
221	0	0.042	
223	0.04	0	
225	0.14	0.083	
227	0.06	0	
229	0.04	0	
233	0.02	0	
239	0.04	0.042	
241	0.02	0	
243	0.04	0.167	
245	0.02	0	

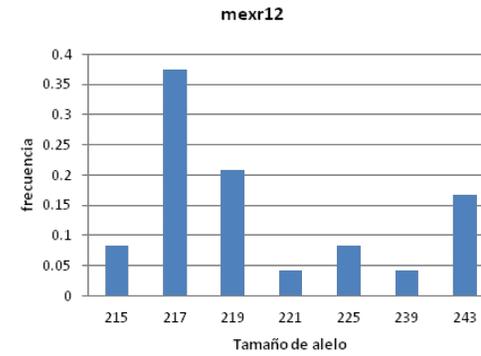
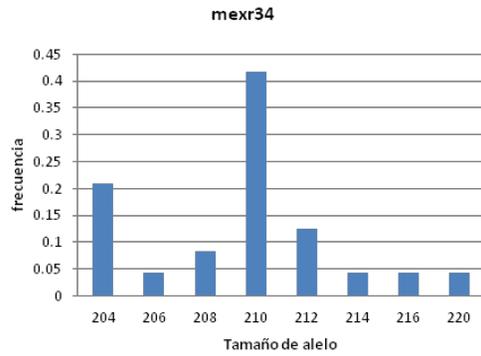
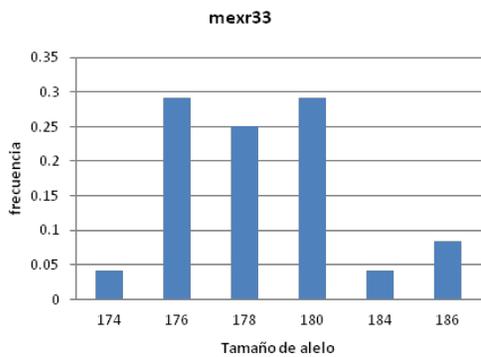
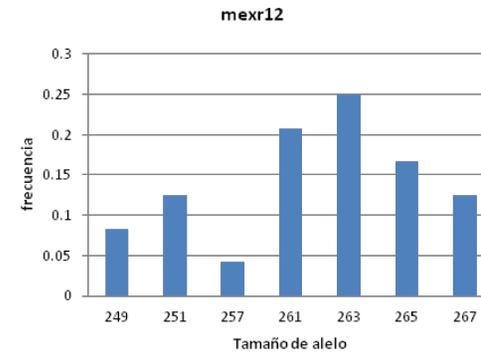
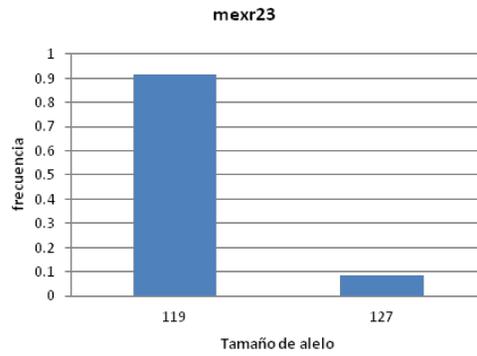
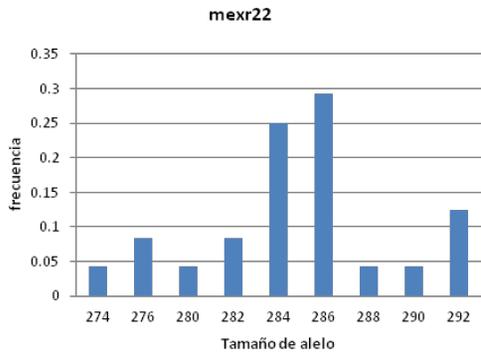
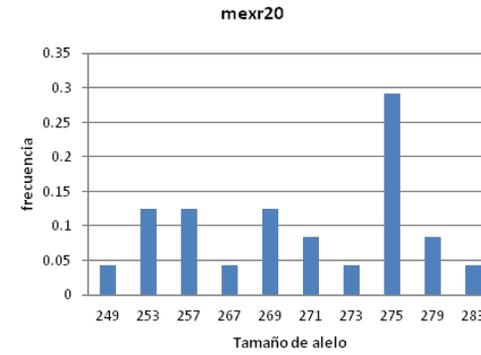
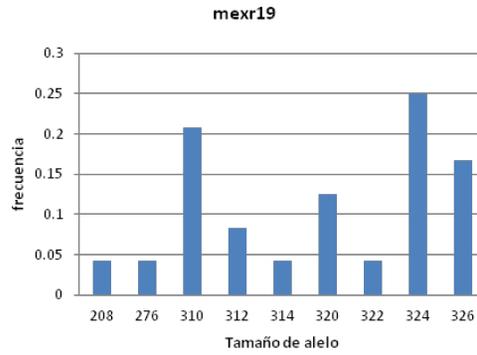
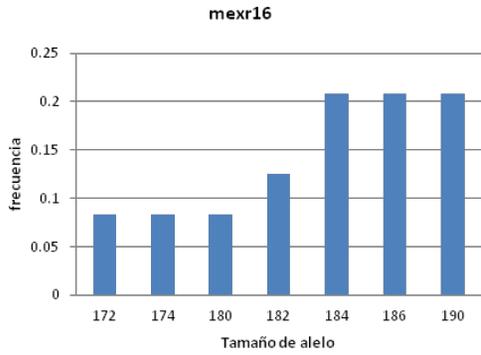
Gráficos de las frecuencias alélicas por locus de la población pre-huracán de *R. spectabilis*.



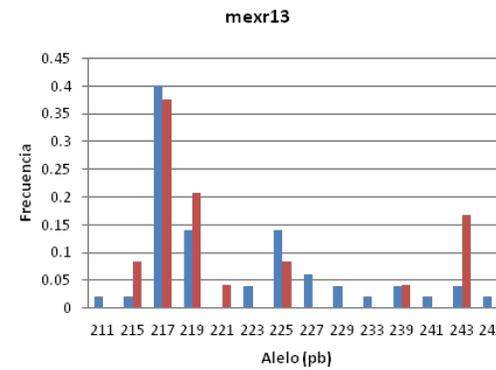
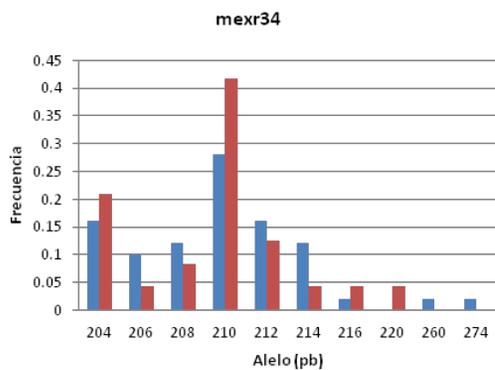
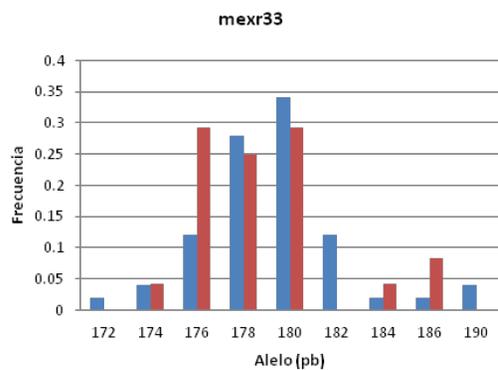
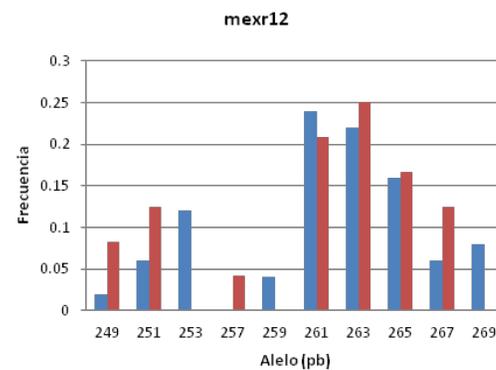
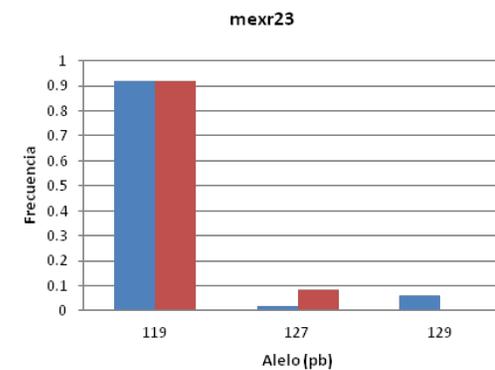
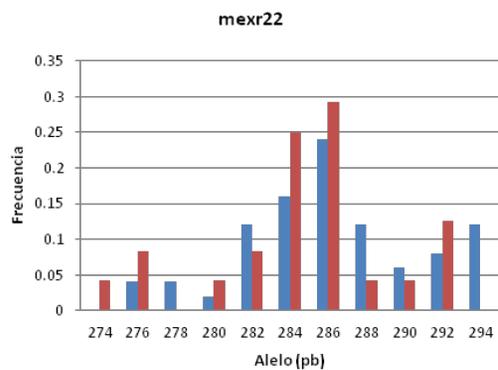
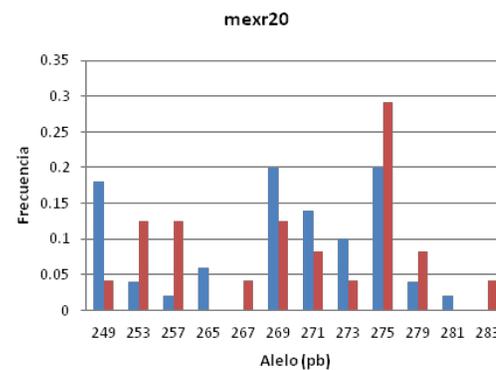
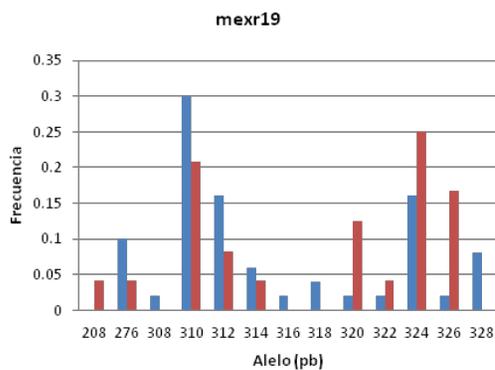
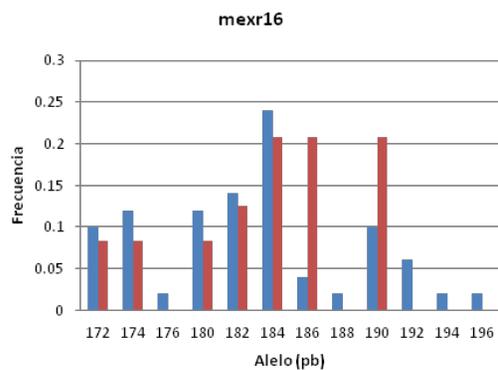
Gráficos de las frecuencias alélicas por locus por cluster de la población pre-huracán de *R. spectabilis* (Cluster 1, azul, cluster 2, marrón, cluster 3, verde, cluster 4, morado).



Gráficos de las frecuencias alélicas por locus de la población post-huracán de *R. spectabilis*.



Gráficos de la comparación de frecuencias alélicas entre poblaciones de *R. spectabilis* pre-huracán (en color azul) y post-huracán (en color rojo) por localidad de muestreo 'Potabilizadora'.



ANEXO 9. Frecuencias genotípicas de las poblaciones de *R. spectabilis* (Se resalta en color naranja los genotipos homocigos y en amarillo los genotipos exclusivos para cada cluster).

PRE-HURACÁN							
LOCUS	GENOTIPO	CLUSTER				CONJUNTO	
		1	2	3	4		
mexr16	174	174	1	0	0	1	2
	172	180	1	0	0	0	1
	174	180	0	0	0	2	2
	176	180	1	0	0	0	1
	178	180	0	0	1	0	1
	180	180	3	0	5	1	9
	172	182	0	0	0	2	2
	174	182	0	0	0	1	1
	176	182	0	0	0	1	1
	180	182	2	0	2	4	8
	182	182	0	0	1	3	4
	172	184	0	0	0	1	1
	174	184	0	0	0	2	2
	180	184	1	0	0	2	3
	182	184	0	0	1	1	2
	184	184	0	0	0	2	2
	172	186	1	0	0	1	2
	180	186	3	0	2	0	5
	182	186	1	2	0	0	3
	186	186	0	0	0	1	1
	176	188	0	0	2	0	2
	180	188	0	0	2	0	2
	182	188	1	0	1	0	2
	184	188	0	1	2	0	3
	186	188	0	0	1	0	1
	172	190	0	0	0	1	1
	176	190	1	0	2	1	4
	180	190	1	0	0	1	2
	182	190	1	1	0	0	2
	188	190	0	0	0	1	1
	180	192	0	0	1	0	1
	182	192	1	0	0	1	2
	184	192	0	0	0	2	2
	186	192	0	0	0	1	1
	188	192	1	0	0	0	1
	190	192	1	0	0	0	1
174	194	0	0	0	1	1	

(continúa)

PRE-HURACÁN							
LOCUS	GENOTIPO	CLUSTER				CONJUNTO	
		1	2	3	4		
mexr19	180	194	0	2	0	0	2
	182	194	0	1	0	0	1
	186	194	0	3	0	0	3
	194	194	0	1	0	0	1
	184	196	0	0	0	1	1
	276	310	0	0	0	1	1
	310	310	0	0	0	7	7
	310	312	1	0	0	3	4
	312	312	3	0	0	0	3
	276	314	0	0	0	1	1
	308	314	1	0	0	0	1
	312	314	1	0	0	3	4
	314	314	0	0	2	0	2
	276	316	0	0	1	0	1
	312	316	1	0	0	0	1
	314	316	1	0	0	0	1
	314	318	1	0	1	0	2
	316	318	1	0	0	0	1
	318	318	0	0	0	1	1
	310	320	0	0	0	1	1
	312	320	1	1	0	1	3
	314	320	0	0	2	0	2
	312	322	1	0	1	1	3
	314	322	1	0	1	0	2
	276	324	0	0	0	3	3
	308	324	0	0	0	1	1
	310	324	0	0	1	1	2
	312	324	0	0	1	0	1
	314	324	0	0	3	0	3
	316	324	0	0	2	2	4
	320	324	0	0	1	1	2
	322	324	0	0	1	0	1
	324	324	0	0	2	0	2
	310	326	1	0	0	1	2
	312	326	1	0	0	0	1
	314	326	1	0	0	0	1
316	326	1	0	0	0	1	

(continúa)

PRE-HURACÁN							
LOCUS	GENOTIPO	CLUSTER				CONJUNTO	
		1	2	3	4		
mexr20	318	326	1	0	0	0	1
	320	326	1	0	0	0	1
	324	326	0	0	0	1	1
	326	326	0	4	0	0	4
	276	328	0	0	0	2	2
	308	328	0	1	0	0	1
	310	328	0	1	0	0	1
	312	328	1	0	0	1	2
	314	328	0	0	1	1	2
	318	328	0	1	0	0	1
	320	328	0	2	0	1	3
	324	328	1	0	0	0	1
	326	328	0	0	0	1	1
	308	330	0	1	0	0	1
	310	330	0	0	1	0	1
	314	330	0	0	1	0	1
	328	330	0	0	1	0	1
	247	247	0	2	0	0	2
	247	249	1	1	0	1	3
	249	249	1	0	2	0	3
	249	251	0	0	0	1	1
	251	253	0	0	1	0	1
	247	255	0	1	0	0	1
	251	259	0	0	1	0	1
	249	265	0	0	0	1	1
	251	265	1	0	0	0	1
	253	265	0	0	1	0	1
	249	269	1	0	1	3	5
	251	269	3	0	0	0	3
	253	269	1	0	0	0	1
	259	269	0	0	0	1	1
	269	269	1	0	0	1	2
	245	271	1	0	0	0	1
	247	271	0	0	0	1	1
	249	271	1	1	3	0	5
	251	271	1	0	0	0	1
265	271	0	0	0	1	1	

(continúa)

PRE-HURACÁN							
LOCUS	GENOTIPO		CLUSTER				CONJUNTO
			1	2	3	4	
269	271	2	0	0	0	2	
271	271	1	0	0	1	2	
249	273	0	2	1	3	6	
251	273	0	1	0	0	1	
255	273	0	0	1	0	1	
259	273	0	0	1	0	1	
269	273	0	0	0	2	2	
271	273	0	0	3	2	5	
249	275	0	1	3	2	6	
253	275	0	0	0	1	1	
257	275	0	0	0	1	1	
265	275	0	0	0	1	1	
269	275	0	0	0	1	1	
271	275	0	0	0	4	4	
273	275	0	0	3	0	3	
275	275	0	0	0	1	1	
251	277	0	0	0	1	1	
271	277	0	1	0	0	1	
275	277	0	1	0	0	1	
249	279	0	0	0	1	1	
251	279	1	0	0	1	2	
265	279	0	0	1	0	1	
269	279	0	0	0	1	1	
277	279	1	0	0	0	1	
251	281	0	0	1	0	1	
253	281	0	0	0	1	1	
269	281	0	0	0	1	1	
265	283	2	0	0	0	2	
271	283	1	0	0	0	1	
275	283	1	0	0	0	1	
mexr22	276	278	1	0	0	0	1
	274	282	0	0	0	1	1
	276	282	0	0	0	1	1
	278	282	0	0	0	2	2
	280	282	0	0	0	1	1
	282	282	0	0	0	1	1
	276	284	0	0	0	1	1
	278	284	0	0	3	0	3
	282	284	0	0	0	1	1
	284	284	0	0	4	1	5
	276	286	2	0	0	0	2

(continúa)

PRE-HURACÁN							
LOCUS	GENOTIPO		CLUSTER				CONJUNTO
			1	2	3	4	
280	286	1	0	0	0	1	
282	286	0	1	4	2	7	
284	286	2	0	3	2	7	
286	286	1	0	5	3	9	
278	288	1	0	0	0	1	
280	288	1	0	0	0	1	
282	288	0	2	0	1	3	
284	288	1	1	1	1	4	
286	288	1	2	0	0	3	
276	290	0	0	0	1	1	
280	290	0	0	0	2	2	
282	290	0	1	0	0	1	
284	290	0	0	1	4	5	
286	290	0	4	1	0	5	
276	292	0	0	1	0	1	
278	292	3	0	0	0	3	
280	292	2	0	0	0	2	
284	292	1	0	0	0	1	
288	292	0	0	0	2	2	
290	292	0	0	0	2	2	
292	292	1	0	0	0	1	
284	294	0	0	0	1	1	
286	294	0	0	0	2	2	
288	294	0	0	0	2	2	
292	294	1	0	0	1	2	
280	296	1	0	0	0	1	
284	296	1	0	0	0	1	
mexr23	119	119	15	1	18	24	58
	119	127	6	7	5	8	26
	127	127	0	3	0	0	3
	119	129	0	0	0	3	3
mexr12	251	251	1	0	0	0	1
	251	253	0	0	0	1	1
	247	257	0	0	3	0	3
	253	257	0	0	0	1	1
	257	257	0	0	2	0	2
	235	259	1	0	0	0	1
	251	259	2	0	0	0	2
	253	259	0	0	0	1	1
	257	259	2	1	0	0	3
	259	259	1	2	2	0	5

(continúa)

PRE-HURACÁN							
LOCUS	GENOTIPO		CLUSTER				CONJUNTO
			1	2	3	4	
249	261	0	1	0	0	1	
253	261	0	0	0	2	2	
257	261	0	0	2	0	2	
259	261	1	0	0	0	1	
261	261	0	0	0	2	2	
247	263	0	0	1	0	1	
251	263	2	0	0	2	4	
253	263	0	0	0	1	1	
257	263	0	0	2	1	3	
259	263	1	0	2	1	4	
261	263	1	0	0	3	4	
263	263	1	0	0	2	3	
233	265	0	0	1	0	1	
249	265	0	0	0	1	1	
251	265	3	0	0	1	4	
253	265	0	0	0	3	3	
257	265	0	0	2	0	2	
259	265	1	0	1	0	2	
261	(continúa)	0	0	0	4	4	
263	265	0	0	0	3	3	
255	267	0	1	0	0	1	
257	267	0	1	0	0	1	
259	267	1	2	1	0	4	
261	267	0	2	2	0	4	
263	267	0	0	0	2	2	
267	267	0	0	1	0	1	
259	269	0	0	0	1	1	
261	269	0	0	0	2	2	
263	269	0	0	0	1	1	
267	269	0	0	1	0	1	
251	271	1	0	0	0	1	
263	271	1	0	0	0	1	
267	271	0	1	0	0	1	
271	271	1	0	0	0	1	
mexr33	172	174	0	0	0	1	1
	174	176	0	0	0	2	2
	176	176	0	0	0	1	1
	174	178	2	0	2	0	4
	176	178	1	0	5	4	10
	178	178	1	1	0	0	2
	170	180	0	0	1	0	1

(continúa)

PRE-HURACÁN							
LOCUS	GENOTIPO		CLUSTER				CONJUNTO
			1	2	3	4	
	174	180	0	0	1	0	1
	176	180	0	0	3	2	5
	178	180	1	0	1	9	11
	180	180	0	0	0	3	3
	174	182	1	0	0	0	1
	176	182	0	0	3	1	4
	178	182	3	3	3	3	12
	180	182	0	0	2	4	6
	182	182	3	0	0	0	3
	176	184	2	0	0	0	2
	178	184	2	0	0	0	2
	180	184	2	0	1	1	4
	182	184	3	1	0	1	5
	178	186	0	4	0	1	5
	180	186	0	0	1	0	1
	184	186	0	1	0	0	1
	178	190	0	1	0	1	2
	180	190	0	0	0	1	1
mexr34	204	206	0	0	0	2	2
	204	208	0	0	0	1	1
	206	208	1	0	1	1	3
	208	208	1	0	0	0	1
	202	210	0	0	0	1	1
	204	210	0	0	1	3	4
	206	210	1	1	0	2	4
	208	210	4	0	1	3	8
	210	210	3	0	0	4	7
	204	212	0	0	1	1	2
	208	212	0	0	3	1	4
	210	212	0	1	3	2	6
	212	212	0	3	2	1	6
	204	214	0	0	0	2	2
	206	214	0	0	2	0	2

(continúa)

PRE-HURACÁN							
LOCUS	GENOTIPO		CLUSTER				CONJUNTO
			1	2	3	4	
	208	214	0	0	1	2	3
	210	214	3	5	4	5	17
	212	214	0	1	2	1	4
	214	214	0	0	1	1	2
	208	216	2	0	0	0	2
	210	216	4	0	0	0	4
	212	216	0	0	1	0	1
	204	218	1	0	0	0	1
	210	218	1	0	0	0	1
	210	222	0	0	0	1	1
	260	274	0	0	0	1	1
mexr13	213	213	0	0	1	0	1
	211	215	0	0	4	0	4
	213	215	0	0	1	1	2
	211	217	0	0	1	1	2
	213	217	0	0	0	1	1
	215	217	0	0	1	0	1
	217	217	0	0	0	4	4
	211	219	2	0	0	0	2
	213	219	1	0	0	0	1
	215	219	0	0	1	0	1
	217	219	1	0	1	1	3
	211	221	1	0	0	0	1
	213	221	0	0	1	0	1
	217	221	0	4	0	1	5
	219	221	0	1	0	0	1
	221	221	0	0	1	0	1
	211	223	1	0	1	0	2
	215	223	0	0	1	0	1
	217	223	2	0	0	0	2
	219	223	1	0	0	2	3
213	225	0	1	1	0	2	
217	225	1	1	0	4	6	

(continúa)

PRE-HURACÁN							
LOCUS	GENOTIPO		CLUSTER				CONJUNTO
			1	2	3	4	
	219	225	2	0	0	1	3
	221	225	0	1	1	0	2
	217	227	0	2	0	1	3
	219	227	0	1	0	1	2
	215	229	0	0	0	1	1
	217	229	0	0	0	1	1
	223	231	1	0	0	0	1
	217	233	1	0	0	0	1
	217	235	0	0	1	0	1
	221	235	0	0	1	0	1
	225	235	1	0	0	0	1
	233	235	0	0	1	0	1
	211	237	1	0	0	0	1
	213	237	1	0	0	0	1
	217	237	0	0	0	2	2
	219	237	0	0	0	1	1
	221	237	0	0	1	0	1
	223	237	0	0	1	0	1
	225	237	2	0	0	0	2
	235	237	2	0	0	0	2
	217	239	0	0	0	3	3
	219	239	0	0	0	2	2
	225	239	0	0	0	1	1
	225	241	0	0	0	1	1
	237	241	0	0	1	0	1
	239	241	0	0	0	1	1
	217	243	0	0	0	1	1
	227	243	0	0	0	1	1
	213	245	0	0	1	0	1
	217	245	0	0	0	2	2

PROST-HURACÁN			
LOCUS	GENOTIPO		FRECUENCIA
mexr16	172	182	1
	172	184	1
	174	184	1
	180	184	1
	182	184	1
	180	186	1
	184	186	1
	186	186	1
	174	190	1
	182	190	1
	186	190	1
mexr19	190	190	1
	310	312	1
	276	314	1
	310	320	1
	312	320	1
	308	324	1
	310	324	1
	320	324	1
	322	324	1
310	326	2	
mexr20	324	326	2
	253	257	1
	253	269	1
	257	269	1
	267	273	1
	253	275	1
	257	275	1
	271	275	1
	275	275	2
	269	279	1
mexr22	271	279	1
	249	283	1
	280	282	1
	284	284	1
	274	286	1
	276	286	2
	284	286	2
	286	286	1
282	288	1	
284	290	1	

(continúa)

PROST-HURACÁN			
LOCUS	GENOTIPO		FRECUENCIA
mexr23	284	292	1
	292	292	1
	119	119	10
mexr12	119	127	2
	249	261	1
	257	261	1
	261	261	1
	251	263	2
	261	263	1
	249	265	1
	263	265	2
	251	267	1
	263	267	1
	265	267	1
mexr33	176	176	2
	174	178	1
	176	180	2
	178	180	4
	180	184	1
	176	186	1
mexr34	178	186	1
	204	206	1
	204	210	3
	208	210	1
	210	210	1
	204	212	1
	210	212	2
	208	214	1
mexr13	210	216	1
	210	220	1
	215	217	1
	217	217	1
	215	219	1
	217	219	1
	219	219	1
	217	225	1
	221	225	1
217	239	1	
217	243	3	
219	243	1	

Anexo 10. Diferenciación alélica y genotípica obtenida de GENEPOP entre las poblaciones 'Potabilizadora' pre y post-huracán de *R. spectabilis*.

Locus	D. alélica		D. genotípica	
	P	SE	P	SE
mexr16	0.6128	0.0062	0.6495	0.0055
mexr19	0.2689	0.0054	0.3442	0.0053
mexr20	0.0534	0.0026	0.0534	0.0023
mexr22	0.1600	0.0035	0.1583	0.0040
mexr23	0.2887	0.0018	0.2799	0.0017
mexr12	0.2155	0.0045	0.1798	0.0042
mexr33	0.3548	0.0053	0.1798	0.0042
mexr34	0.9208	0.0021	0.8713	0.0028
mexr13	0.4181	0.0062	0.3932	0.0054
TODOS	0.2038		0.1880	

Anexo 11. Valores de diversidad genética de *O. c. cozumelae* obtenidos con GENEPOP. Se resaltan en negritas los valores de media y Desviación estándar para cada estadístico.

Pre-huracán						
Locus	N	na	ne	Ho	He	H _{NEI}
ORY03	90	9	3.4402	0.6421	0.7093	0.7131
ORY10		14	6.6594	0.9368	0.8498	0.8543
ORY16		12	4.9368	0.8421	0.7974	0.8017
ORY21		13	6.8831	0.8105	0.8547	0.8592
ORY28		7	3.395	0.6842	0.7055	0.7092
ORY40		8	2.6093	0.6526	0.6168	0.62
ORY60		10	6.3226	0.9368	0.8418	0.8463
ORY64		9	2.3064	0.5579	0.5664	0.5694
ORY26		7	1.3505	0.2737	0.2596	0.2609
MEDIA			9.8889	4.2115	0.7041	0.6890
DE		2.5712	2.0541	0.2098	0.1916	0.1927
Post-huracán						
Locus	N	na	ne	Ho	He	H _{NEI}
ORY03	85	5	2.2978	0.6588	0.5648	0.5682
ORY10		17	6.699	0.9059	0.8507	0.8558
ORY16		12	3.6392	0.8706	0.7252	0.7295
ORY21		13	7.2573	0.8471	0.8622	0.8673
ORY28		8	3.0782	0.6471	0.6751	0.6791
ORY40		9	3.8403	0.6824	0.7396	0.7440
ORY60		9	5.2543	0.9294	0.8097	0.8145
ORY26		11	3.1403	0.7765	0.6816	0.6856
ORY64		11	4.2798	0.6353	0.7663	0.7709
Media			10.5556	4.3875	0.7725	0.7417
		3.3953	1.6897	0.1190	0.0944	0.0949
2011						
Locus	N	na	ne	Ho	He	H _{NEI}
ORY03	10	6	3.3898	0.7	0.705	0.7833
ORY10		7	4.6512	0.7	0.785	0.8722
ORY16		5	4	0.9	0.75	0.8333
ORY21		8	6.6667	1	0.85	0.9444
ORY28		6	3.3898	0.7	0.705	0.7833
ORY40		5	3.5088	0.8	0.715	0.7944
ORY60		6	3.2258	0.7	0.69	0.7667
ORY64		5	2.7397	0.8	0.635	0.7056
ORY26		4	1.6949	0.4	0.41	0.4556
Media			5.7778	3.6963	0.7444	0.6939
		1.2019	1.3780	0.1667	0.1228	0.1364