



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Iztacala



Variabilidad y estructura genética de
poblaciones de mangle negro (*Avicennia
germinans*) en hábitats fragmentados a lo
largo de las costas de México

T E S I S

Que para obtener el título de

BIÓLOGA

P R E S E N T A

Lourdes Martínez García

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Juan Núñez Farfán



Los Reyes Iztacala, Edo. de México, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

Agradezco a la **Facultad de Estudios Superiores Iztacala**, por permitirme la formación como Bióloga y a la **Universidad Nacional Autónoma de México** por brindarme la oportunidad de obtener y generar conocimiento fundamental que me ha ayudado en mi crecimiento personal y profesional.

Mi más sincero agradecimiento a mi asesor, **Dr. Juan Núñez Farfán**, por apoyar esta parte formativa de mi vida, por las enseñanzas, los consejos, la paciencia, los acertados comentarios para mejorar la estructura de este trabajo y la confianza para que este proyecto se llevara a cabo. Muchas gracias Dr. Juan.

Agradezco también el valioso apoyo que me brindaron el **Dr. Jorge Ciros Pérez**, la **Dra. Sofía Solorzano Lujano**, el **Dr. Raúl Cueva del Castillo Mendoza** y el **Dr. Jorge Eduardo Campos Contreras**, con sus comentarios durante el desarrollo de este manuscrito y la aportación de ideas que enriquecieron esta investigación.

Gracias a la **Dra. Rosalinda Tapia López** y a la comunidad interna del Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución por su apoyo y colaboración en las actividades diarias, por las explicaciones y las tardes amenas de arduo trabajo.

Asimismo, agradezco a **David Rafael Rubio Jasso** por las risas, la paciencia y su colaboración con las ilustraciones presentes en este trabajo de investigación. Gracias por todo, David.

Muchas gracias a mis amigos por su apoyo y confianza, por las risas y las aventuras diarias. Gracias por estar presentes en todo momento.

Dedicatorias

Mamá y Papá;

Las dos personas más importantes en mi vida, mis ejemplos a seguir, su amor, su apoyo, su felicidad y sus regaños, me han inspirado siempre. Gracias por creer en mí y nunca dejarme sola. Gracias por una vida llena de alegría, sonrisas y enseñanzas.

Abuelita Lourdes;

Que orgullo el mío, haber sido nombrada en tú honor, porque eres la persona más valiente y con la mayor fortaleza que conozco, una de mis más grandes inspiraciones. Muchas gracias por todo tu cariño y esfuerzo diario.

Liliana;

Tú, compañera de toda mi vida, siempre presente en cada recuerdo y en cada aventura, mi compañía en todo momento y quien me ha brindado una de las más grandes alegrías de mi vida, mi sobrino José Manuel. Gracias por todo.

José Manuel;

Esa alegría que me produce el hecho de escucharte decir mi nombre, tu gusto por los libros y los animales, ese ánimo y espíritu travieso tan característicos de ti. Gracias por llenar mi vida de felicidad con tus risas y tu inocencia. Gracias por dejarte molestar y molestarme. Soy feliz de que nacieras, por quererte y porque me quieras.

*"It's the questions we can't answer that teach
us the most.*

They teach us how to think.

*If you give a man an answer, all he gains is a
little fact.*

*But give him a question and he'll look for his
own answers."*

-Patrick Rothfuss-

Variabilidad y estructura genética de poblaciones de mangle negro
(*Avicennia germinans*) en hábitats fragmentados a lo largo de las
costas de México

Índice

Resumen	10
Abstract	11
I Introducción	
I.I Variabilidad genética y Fragmentación	12
I.I.I Deriva genética	12
I.I.II Flujo génico	13
I.I.III Endogamia	14
I.I.IV Selección Natural	14
I.I.V Mutación	15
I.II Marcadores Moleculares	17
I.III Los Manglares	17
I.IV <i>Avicennia germinans</i>	20
II Objetivos	25
III Hipótesis	26
IV Métodos	
IV.I Área de estudio	27
IV.II Obtención de muestras	29
IV.III Extracción de ADN y amplificación de microsatélites.....	29
IV.IV Análisis estadísticos	31
V Resultados	33
VI Discusión	40
VII Conclusiones	47
Referencias	48
Anexos	61

Índice de Tablas

Tabla 1. Nombre, abreviación, ubicación y superficie de las ocho poblaciones muestreadas en las costas de México.....	27
Tabla 2. Condiciones para la reacción de PCR para cada microsatélite.....	30
Tabla 3. Medidas de variabilidad genética para las ocho poblaciones de <i>A. germinans</i> a lo largo del territorio mexicano. N = Número de individuos por población; H_s = Heterocigosidad esperada; H_l = Heterocigosidad observada; P = Polimorfismo; N_a = Número promedio de alelos por locus; F_{IS} = coeficiente de endogamia; $*p < 0.05$	34
Tabla 4. Estimación de cuellos de botella de acuerdo al modelo de mutación en dos fases (TPM) y paso a paso (SMM). En gris se observan los valores de p significativos. $n = 2N$; k_o = número de alelos; H_E = heterocigosidad esperada; p = valor de significancia ($*p < 0.05$).....	35
Tabla 5. Valores de R_{ST} . Método de distancia: suma de diferencias de tamaño cuadradas. Debajo de la diagonal valores de R_{ST} ; por encima de la diagonal valores de p . (Valor de significancia $p < 0.05$).....	36
Tabla 6. Matriz con valores de flujo génico ($Nm = 1 - R_{ST}/4R_{ST}$).....	38
Tabla 7. Porcentajes de variación en niveles jerárquicos estimados en cada grupo K para <i>A. germinans</i> . Φ_{CT} = varianza entre grupos con respecto a la varianza total. $*p < 0.05$ = valor de significancia.....	39

Índice de Figuras

- Figura 1.** Mapa de la distribución de *Avicennia germinans* en las costas del Océano Pacífico, Golfo de México y Mar Caribe en el territorio mexicano.....21
- Figura 2.** Ciclo de vida de *Avicennia germinans*.....22
- Figura 3.** Localización de las poblaciones en estudio de *A. germinans* en las costas del Océano Pacífico, Golfo de México y Mar Caribe en el territorio mexicano.....28
- Figura 4.** Dendograma calculado con el algoritmo *Neighbor-joining* a partir de los valores de distancia genética de Nei entre las ocho poblaciones de *A. germinans*.....37
- Figura 5.** Relación entre la distancia geográfica (km) y la distancia genética (R_{ST}) calculada a través de una prueba de Mantel.....37

RESUMEN

Los manglares son ecosistemas reconocidos mundialmente por su importancia tanto biológica como económica, por lo cual es necesario promover su conservación. Sin embargo, las actividades antropogénicas han generado una fragmentación que modifica el funcionamiento y estructura de estos ecosistemas. Este proceso es la principal causa de pérdida de biodiversidad, y disminución del tamaño efectivo de las poblaciones, lo que promueve la pérdida de la variabilidad genética por efecto de la endogamia y deriva génica. El objetivo de este estudio fue determinar las consecuencias de la fragmentación del hábitat en la variabilidad y estructura genética de poblaciones de plántulas de *Avicennia germinans* distribuidas en diferentes costas de México. En total se muestrearon 240 individuos de ocho poblaciones, a lo largo de la costa del Océano Pacífico, Golfo de México y Mar Caribe, y se amplificaron 18 microsatélites específicos. Los niveles de heterocigosidad para *A. germinans* resultaron altos; sin embargo, se detectaron diferencias en la riqueza alélica entre las costas del Océano Pacífico y Atlántico. El análisis de Hardy-Weinberg reveló deficiencia de heterocigos en las ocho poblaciones. El coeficiente de endogamia (F_{IS}) mostró que existen altos niveles de endogamia dentro de cada una de las poblaciones. La diferenciación genética entre poblaciones fue significativa, mostrando una correlación positiva entre la distancia genética y geográfica ($R^2 = 0.578$, $p = 0.020$). Cabe mencionar que se detectó un “cuello de botella” poblacional además del efecto de la deriva génica y la endogamia como factores decisivos en la distribución de la variación genética. La extensión, el impacto antropogénico e historia particular de cada población, son factores exclusivos e influyentes en la dinámica poblacional de cada una de ellas. Los resultados obtenidos indican que es necesario implementar programas de conservación y manejo de recursos para garantizar el mantenimiento de la variación genética de la especie para reducir sus posibilidades de extinción.

Palabras clave: variación genética, fragmentación, manglares, *Avicennia germinans*, estructura poblacional, microsatélites, conservación.

ABSTRACT

Mangrove ecosystems are worldwide recognized for their biological and economical importance, which makes necessary to promote their conservation. However, human activities have reduced and fragmented mangrove ecosystems thus negatively affecting their structure and function. Habitat fragmentation is the main driver of biodiversity loss and reduction of population sizes that promotes the loss of genetic variation as a result of inbreeding and genetic drift. This study aims to determine the consequences of habitat fragmentation on the genetic diversity and population structure of *Avicennia germinans* seedlings from different populations distributed along the coasts of Mexico. 240 seedlings were sampled in eight populations along the coast of the Pacific Ocean, Gulf of Mexico and Caribbean Sea, each screened for 18 microsatellite loci specific for *A. germinans*. High levels of heterozygosity for *A. germinans* were detected. However, differences in allelic richness between coasts were detected. The Hardy-Weinberg analysis revealed heterozygote deficiency in eight populations. High levels of within-population inbreeding (F_{IS}) were detected. Genetic differentiation among populations was significant, showing a correlation between genetic and geographic distance. Analysis reveals a bottleneck, genetic drift and inbreeding in the distribution of genetic variation. Populations particular history and anthropogenic impact differ between areas. In view of this, it is relevant to implement conservation programs and environmental management to ensure the maintenance of genetic variability of *A. germinans* in order to reduce its risk of extinction.

Key words: genetic variation, fragmentation, mangroves, *Avicennia germinans*, population structure, microsatellites, conservation.

I. INTRODUCCIÓN

I.I Variabilidad genética y fragmentación

La fragmentación es un proceso que altera el funcionamiento y la estructura de un hábitat (Mas y Correa 2000; Giri *et al.* 2011), produciendo una reducción del área de un ecosistema, genera subdivisión de las poblaciones remanentes en fragmentos y ocasiona cambios a nivel genético entre las especies (Ellstrand y Elam 1993; Young *et al.* 1996; Núñez-Farfán *et al.* 2002). Por ello se le considera una de las principales causas de pérdida de diversidad biológica y la perturbación antropogénica de mayor impacto negativo a nivel genético (Holsinger 2000; DiBattista 2008; Ochoa *et al.* 2012).

La actual destrucción del hábitat tiene como consecuencia la pérdida de la variación genética en poblaciones que viven en ambientes perturbados (Améndola 2009). Los niveles de variación genética son resultado de la acción conjunta de la selección natural, la mutación y la deriva génica. Se considera que altos niveles de variación genética mantienen la viabilidad de las poblaciones ya que les confieren la capacidad de responder a presiones de selección (Amos y Harwood 1998; Castellanos 2009). Las especies que residen en hábitats fragmentados pueden presentar escaso flujo génico entre poblaciones y un aumento en la endogamia y la deriva génica. Esto reduce la variación genética y adaptabilidad de las poblaciones, aumentando sus probabilidades de extinción (Young *et al.* 1996; Parrent *et al.* 2004; Ochoa *et al.* 2012).

Para comprender la influencia de las fuerzas evolutivas en poblaciones fragmentadas, se debe considerar a la variación genética intra e interpoblacional, ya que esto permite evaluar el efecto de factores históricos y actuales en la variación genética, así como estimar el estado de conservación de las poblaciones (Hedrick 2005; Castellanos 2009).

I.I.I Deriva génica

La deriva génica es la fluctuación aleatoria de frecuencias alélicas de una generación a otra; es más probable que ocurra en poblaciones pequeñas (lo cual puede ocurrir en ambientes fragmentados) promoviendo la pérdida de variación genética, la fijación de alelos e incrementando la diferenciación entre poblaciones (Hedrick 2005). Por consiguiente, si el tamaño poblacional es pequeño, el papel de la deriva génica es preponderante y actúa sobre todos los loci (Castellanos 2009). Cuando un alelo se fija, ya

no cambiará su frecuencia a menos que se introduzca otro alelo en la población por mutación o flujo génico; por lo tanto, existe una pérdida de heterocigosidad (Hartl y Clark 1997).

La deriva génica puede eliminar alelos en poblaciones con alta incidencia de mortalidad estacional o en poblaciones pequeñas y aisladas, cuyo tamaño permanece reducido por razones ecológicas o de comportamiento (Hartl 1988; Hartl y Clark 1997).

Las fluctuaciones poblacionales pueden generar “cuellos de botella” en poblaciones que sufren una reducción drástica en su tamaño, posibilitando el cambio aleatorio en la frecuencia de los alelos. Por otro lado, cuando un grupo reducido de una población funda una población nueva, puede ocurrir una disminución drástica de variación genética (Slatkin 1999); este fenómeno se conoce como “efecto fundador”.

I.I.II Flujo génico

El flujo génico hace referencia al intercambio de alelos entre poblaciones, lo que puede ocasionar una disminución en la diferenciación interpoblacional y aumento en la variación intrapoblacional (Rousset 1997); actúa en poblaciones donde existe un desplazamiento de gametos, semillas o individuos juveniles o adultos, así como eventos de extinción y recolonización de poblaciones (Wright 1943; Levin 1981; Slatkin 1985a). Si el flujo génico interpoblacional es alto, es muy probable que las poblaciones estén evolucionando de manera conjunta; por el contrario, bajo flujo génico puede contribuir al aislamiento reproductivo y al establecimiento de linajes evolutivamente independientes (Nei 1973; Slatkin 1994).

Para conocer la importancia del flujo génico entre las poblacionales, así como de las tasas de dispersión, se han generado distintos modelos teóricos (Slatkin 1994; Hedrick 2005):

Modelo general de islas: Modelo básico del flujo génico que supone la existencia de diversas poblaciones que intercambian individuos independientemente de su distancia, por lo tanto, se espera que los migrantes tengan una frecuencia génica igual a la del conjunto de las poblaciones.

Modelo de aislamiento por distancia: En este modelo, la población no es una unidad panmítica. Los cruzamientos al azar están limitados por la distancia, de modo que

los individuos tendrán una mayor probabilidad de aparearse con individuos de poblaciones vecinas.

Modelo *stepping-stone*: Modelo caracterizado por subdivisiones discretas conectadas por migración, en donde cada población intercambia individuos con las poblaciones cercanas (dos en una dimensión, cuatro en dos dimensiones), además de incorporar un criterio de aislamiento por distancia.

I.I.III Endogamia

La endogamia es el cruzamiento de individuos emparentados; ésta puede disminuir la supervivencia poblacional y aumentar las proporciones de individuos homocigos en una población (Frankham 2005). La presencia de depresión por endogamia trae consigo consecuencias perjudiciales sobre la reproducción, incluyendo la capacidad de apareamiento, la fecundidad femenina, la supervivencia de juveniles y riesgos de una pérdida de la diversidad genética (Frankham *et al.* 2002).

El coeficiente de endogamia, es la probabilidad de que dos alelos en un locus de un individuo sean idénticos por descendencia (Wayne y Morin 2004; O'Grady *et al.* 2006). Éste coeficiente señala el grado de endogamia que existe en una población además de incidir en la probabilidad de extinción de las poblaciones al disminuir la variabilidad genética dentro de estas (Castellanos 2009).

I.I.IV Selección Natural

La selección natural modifica las frecuencias de genes asociados a caracteres benéficos en el éxito reproductivo de los organismos (*i.e.*, *fitness*) (Mallet 1995; Marone *et al.* 2002). Algunas variantes del carácter brindan a los organismos mayor capacidad de sobrevivir y producir descendencia (Zhou *et al.* 2011).

Dentro de una población la selección natural opera si existen diferencias entre los fenotipos en supervivencia y reproducción (Kingsolver *et al.* 2001).

Con la finalidad de entender la variación temporal de las frecuencias genéticas y la tasa de cambio de frecuencias a causa de la selección, se han desarrollado modelos matemáticos, ya que si conocemos la medida de eficacia (*fitness*) de cada genotipo, podemos predecir el cambio en la frecuencia de genotipos de una generación a la siguiente (Frank 2012).

La eficacia relativa es la medida de la supervivencia y reproducción de diferentes genotipos; cabe mencionar que para cada genotipo se asocia un valor de eficacia (W). Por otro lado, el coeficiente de selección (S) es la reducción en la eficacia biológica de cierto genotipo en comparación con otro genotipo mejor favorecido por la selección (Chen y Rajewsky 2006).

I.I.V Mutación

La mutación son los cambios en la estructura del ADN que introducen nuevas variantes génicas en una población; es decir, es la fuente de nuevas variantes susceptibles a heredarse (Droop y Hickinbotham 2011). Es importante considerar que las mutaciones se producen en los individuos de las poblaciones independientemente de si éstas confieren o no al organismo alguna ventaja adaptativa, lo que indica que las mutaciones son azarosas (Watson *et al.* 2004).

Una mutación puede afectar a células somáticas, en donde no existirá una herencia a los descendientes del individuo, en cambio, cuando una mutación afecta a una célula germinal los efectos pueden permanecer silenciados y/o expresarse en el individuo y sus descendientes; las mutaciones pueden afectar a un sólo gen (mutaciones puntuales) o al número o estructura de los cromosomas (cambios cromosómicos) (Baake y Wagner 2001).

Cabe mencionar, que deben considerarse dos aspectos de este mecanismo, el equilibrio mutacional que puede ocurrir en ausencia de otras fuerzas evolutivas, y la interacción entre mutación y selección natural (Echols 1982; Saakian y Hu 2004).

Dentro de un equilibrio mutacional, la mutación se da sólo en una dirección. Esto constituye una tasa de mutación directa (*forward*) y/o inversa (*backward*), mientras que en la interacción mutación-selección natural, el alelo que presente desventaja selectiva va a disminuir su frecuencia génica y en determinado momento se balancearán la tasa mutacional y la presión selectiva, lo cual lleva a un equilibrio en las frecuencias génicas de una población (Adami *et al.* 2000; Hedrick 2005).

Por otro lado, la reducción y fragmentación de ambientes, así como una restricción en su extensión, generan un aislamiento entre poblaciones, ocasionando modificaciones en el ambiente físico (alteración de flujos de viento, agua y nutrientes), y biogeográfico (Castellanos 2009), razón por la cual la influencia de factores físicos y biológicos son

indispensables en la variación demográfica durante el crecimiento de las especies juveniles (Osunkoya y Creese 1997; Khan *et al.* 2013).

En ambientes naturales, las disimilitudes morfológicas entre individuos juveniles y adultos pueden no siempre ser visibles; sin embargo, si se realiza un estudio de genética poblacional, estas diferencias suelen reflejarse en la variabilidad genética poblacional (Ochoa *et al.* 2012). Un individuo juvenil encuentra grandes cambios a lo largo de su desarrollo, específicamente en respuesta a los cambios de luz, agua y nutrientes (Augspurger y Bartlett 2003). Por consiguiente, si el hábitat de dicho individuo, se ve alterado por diferentes sucesos, las presiones ejercidas por el ambiente pueden llegar a impulsar el aumento de los niveles de endogamia y deriva génica, así como disminuir el flujo génico entre poblaciones (Clarke y Myerscough 1993; Schnabel *et al.* 1998).

Distintos estudios han relacionado los bajos niveles de variabilidad genética con alta probabilidad de extinción, además de sugerir que la variación génica puede disminuir con la reducción del área de distribución geográfica de una población. Sin embargo, la fragmentación no siempre conduce a una pérdida de diversidad genética (Young *et al.* 1996, Kelly *et al.* 2000), sino que se mantiene a través del tiempo (Eguiarte *et al.* 1992; Collevatti *et al.* 2001; Céspedes *et al.* 2003; Hamrick 2004)

De acuerdo con Ellison y Farnsworth (1996), las perturbaciones de origen humano, como la extracción de especies y/o recursos naturales, la contaminación y el cambio climático, son perjudiciales para poblaciones de manglares y bosques tropicales, pero no necesariamente conllevan a una pérdida de variación genética o una disminución en tamaño poblacional. Ohsawa e Ide (2008), revisaron la distribución de la variabilidad génica en poblaciones periféricas de diversas especies de plantas, que al estar significativamente aisladas presentaron un incremento de deriva génica y endogamia, y en consecuencia una disminución de flujo génico. Jump y Peñuelas (2006) estudiaron a *Fagus sylvatica* en Europa, y encontraron que la fragmentación del hábitat de esta especie ha guiado a las poblaciones a cuellos de botella y un aumento de endogamia, por lo tanto, una disminución de variación genética interpoblacional. Por otro lado, Parrent *et al.* (2004) encontraron poblaciones de *Datronia caperata* en los manglares de Panamá que presentan un alto grado de diversidad genética, aun cuando existen grandes distancias entre poblaciones en hábitats fragmentados. Asimismo, Piotti (2009) explicó que entre más antigua es la fragmentación de un hábitat, mayor es la pérdida de variabilidad genética.

I.II Marcadores Moleculares

La variabilidad genética puede estimarse mediante varias metodologías, destacándose entre ellas el uso de marcadores moleculares de ADN, los cuales son biomoléculas relacionadas a un rasgo genético, tales como proteínas y ADN (Villasmil-Ontiveros *et al.* 2008).

Debido a sus características, se ha incrementado el uso de microsatélites o STR's, que son secuencias cortas y simples de repeticiones en tándem (alineadas y seguidas) de aproximadamente 1-6 bp (Graham *et al.* 2000).

Estos marcadores se caracterizan por ser altamente polimórficos, codominantes, con altas tasas de mutación y fácilmente automatizables (Gupta *et al.* 1994) y en general, selectivamente neutros; son utilizados para analizar la estructura de las poblaciones, estimar niveles de variabilidad genética intraespecífica y establecer relaciones filogenéticas entre especies (Gupta *et al.* 1996; Ellegren 2004).

I.III Los Manglares

El manglar es un ecosistema de formaciones leñosas, frecuentemente arbustivas o arborescentes que marca la transición entre mar y tierra, comúnmente situado en planicies costeras cerca de las desembocaduras de ríos, bordes de lagunas costeras y estuarios (Pinto-Nolla *et al.* 1995; García *et al.* 2012). Se caracterizan por recibir la influencia de agua marina y descargas de agua dulce, además de dominar aproximadamente el 75% de las líneas de costas tropicales y subtropicales en el mundo (Escamilla 2011).

La diversidad biológica de los manglares se divide en dos grupos, el oriental con 40 especies (Australia, Sureste de Asia, India, Este de África y Pacífico Oeste) y el occidental con ocho especies (Oeste de África, Mar Caribe, Florida, Sudamérica y Pacífico Norte) (Feller y Sitnik 1996). En México predominan poblaciones de cuatro especies de mangle: *Rhizophora mangle* (mangle rojo), *Laguncularia racemosa* (mangle blanco), *Avicennia germinans* (mangle negro) y *Conocarpus erectus* (mangle botoncillo) (Tomlinson 1986).

Las poblaciones de manglares están compuestas de especies filogenéticamente relacionadas (Cerón-Souza *et al.* 2012), que, a lo largo del tiempo, se han adaptado a las diferentes condiciones ambientales del medio costero (Sandoval-Castro *et al.* 2014).

Tienen raíces especializadas para tolerar y filtrar las altas cantidades de sal, sus semillas se mantienen fijas en la planta madre y germinan formando un propágulo. Son las únicas especies arbóreas que completan su ciclo de vida en condiciones de alta salinidad, así mismo son susceptibles a cambios ambientales (Rey y Rutledge 2001), por ende, su capacidad para adaptarse y regenerarse de cualquier tipo de perturbación, depende de la dispersión, la colonización y la diversidad genética que se encuentre dentro y entre poblaciones (Cerón-Souza *et al.* 2012). Una característica fundamental de los manglares es su capacidad para colonizar distintos hábitats. La dispersión se manifiesta según las interacciones físicas, químicas y biológicas de un área en particular, y depende de los propágulos, los cuales tienden a consolidarse en aguas someras y/o a desplazarse con ayuda de las corrientes marinas (Tomilinson 1986; Rey y Rutledge 2001).

Un aspecto importante en la estructura de las poblaciones de manglar, es la variabilidad de los parámetros climático-meteorológicos, así como las propiedades físico-químicas de las corrientes, olas y surgencias que varían de acuerdo con el gradiente latitudinal (Foroughbakhch *et al.* 2004), siendo las características delimitantes de la distribución de este ecosistema. Los manglares reducen la erosión de la costa al atenuar los efectos de las olas y corrientes, ofrecen protección a los cambios ambientales e hidrodinámicos, y actúan como refugio de los depredadores para la fauna y flora que coexiste en este ambiente (Lugo 2002). Son los ecosistemas más productivos del planeta al generar 24 t ha⁻¹ año de biomasa (Sol-Sánchez *et al.* 2015) y generan una gran cantidad de nutrientes y materia orgánica, los cuales son exportados por las mareas hacia la franja litoral más cercana a la costa, donde son aprovechados por pastos marinos y una variedad de peces y crustáceos que tienen importancia comercial (Zaldívar- Jiménez *et al.* 2012). Asimismo, estos ecosistemas funcionan como filtros biológicos que capturan sedimentos y desechos de ríos que finalmente son purificados en el mar (Ezcurra *et al.* 2009).

Las acciones antropogénicas incrementan las amenazas y riesgos naturales sobre los manglares (Aung *et al.* 2013). El conflicto que suponen las actividades humanas sobre los hábitats de dichos organismos, sugieren una pérdida continua de este ambiente (Nettel-Hernanz *et al.* 2013). En el transcurso del tiempo y por diversas razones, el área de este ecosistema ha sido impactada negativamente por eventos de deforestación o industrias pesqueras y camaroneras, así como construcciones urbanas, turismo y derrames de sustancias químicas (Valiela *et al.* 2001; Li *et al.* 2013). En México, se estima

una tasa de deforestación en manglares del 5% anual, eliminando alrededor del 30% de su extensión geográfica (Lewis 2005). En el Golfo de México y Mar Caribe, los impactos ambientales producidos por la actividad camaronera han impactado la calidad del agua, aumentando los niveles de nitrógeno y fósforo inorgánico (Morales-Ojeda y Herrera-Silveira 2010; Li *et al.* 2013), generando niveles de acidificación superiores a los establecidos en la zona, destruyendo cerca del 38% del área de hábitat del manglar (García *et al.* 2012).

Dentro del territorio mexicano, los manglares constituyen 770,057 hectáreas del territorio nacional (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad [CONABIO] 2009). La superficie total de este ecosistema ha sido deforestada hasta perder alrededor del 60% en extensión, debido a la industria pesquera y camaronera, además del mal uso de los recursos costeros (Sol-Sánchez *et al.* 2015). La tasa anual de pérdida de manglar en el Caribe Mexicano, especialmente en el estado de Quintana Roo (alrededor de un 12%), es más alta que en el Pacífico y el Golfo de México (Hirales-Cota *et al.* 2010).

La falta de planificación del desarrollo urbano, industrial y turístico, así como del desarrollo agrícola, ganadero y acuícola, han desplazado y reducido extensiones considerables de manglares, razón por lo cual son el ecosistema tropical costero más amenazado (Lacerda *et al.* 1993; Allen *et al.* 2001; Valiela *et al.* 2001).

I. IV *Avicennia germinans*

Avicennia germinans, también conocido como mangle negro (CONABIO 2009), se distribuye en las costas tropicales y subtropicales del Pacífico y las costas del Atlántico del continente americano, así como al oeste de África (Tomlinson 1986).

En México, las poblaciones de esta especie se localizan a lo largo de la costa del Pacífico Mexicano, en Baja California Sur, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, y Chiapas. Mientras que, en el Golfo de México, encontramos poblaciones de *A. germinans* en Tamaulipas, Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo (Figura 1). Su distribución se ve influenciada por los cambios en la topografía, los niveles de inundación por agua salada y/o salobre y los niveles de salinidad de los suelos (Jiménez y Lugo 1970).

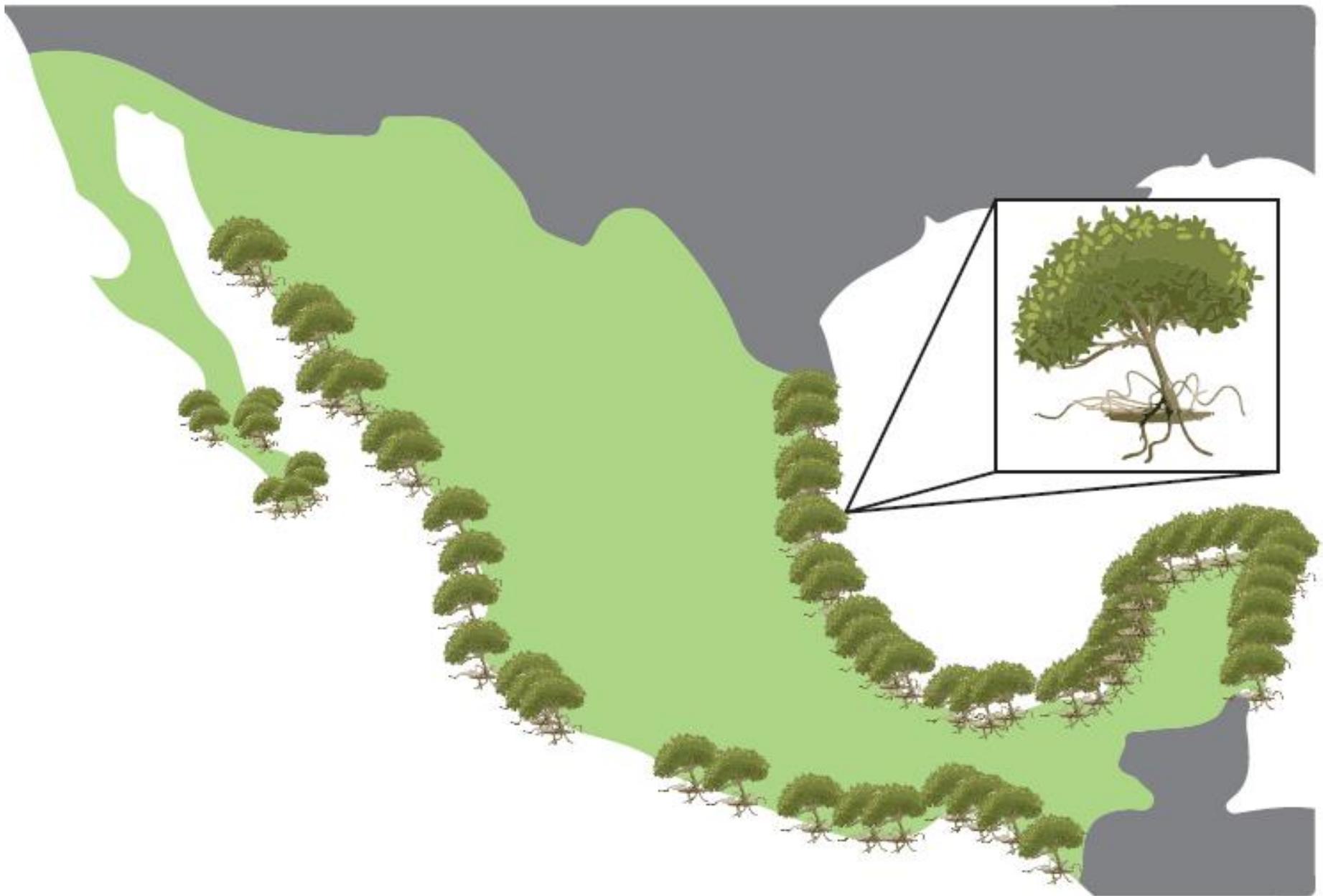


Figura 1. Mapa de la distribución de *Avicennia germinans* en las costas del Océano Pacífico, Golfo de México y Mar Caribe en el territorio mexicano (Ilustración de David Rafael Rubio Jasso).

Las poblaciones de mangle negro se caracterizan por presentar árboles de 15 a 30 metros que además de ser una importante fuente de nutrientes (Tomlinson 1986; Cruz-Romero *et al.* 2011), ofrece refugio para la reproducción de una gran variedad de organismos (Parani *et al.* 1998, Nettel-Hernanz *et al.* 2013). Cada árbol tiene/presenta neumatóforos dispuestos radialmente alrededor del tronco. Cabe mencionar que *A. germinans* es una especie criptovívipara (semillas que germinan dentro del fruto, cuando este aún está adherido al árbol) que se reproduce todo el año (Suárez y Medina 2005; Guo *et al.* 2013). Esta especie presenta tres etapas en su ciclo de vida (Pickens *et al.* 2011; Figura 2):

- Etapa de dispersión: los propágulos flotan en el agua salada hasta que llegan a tierra o se ven varados.
- Etapa de varamiento: el hipocótilo se extiende desde los cotiledones permitiendo que las raíces penetren y se aferren al sustrato.
- Etapa de establecimiento de la semilla: aparecen las primeras hojas y el tallo comienza a acumular tejido leñoso

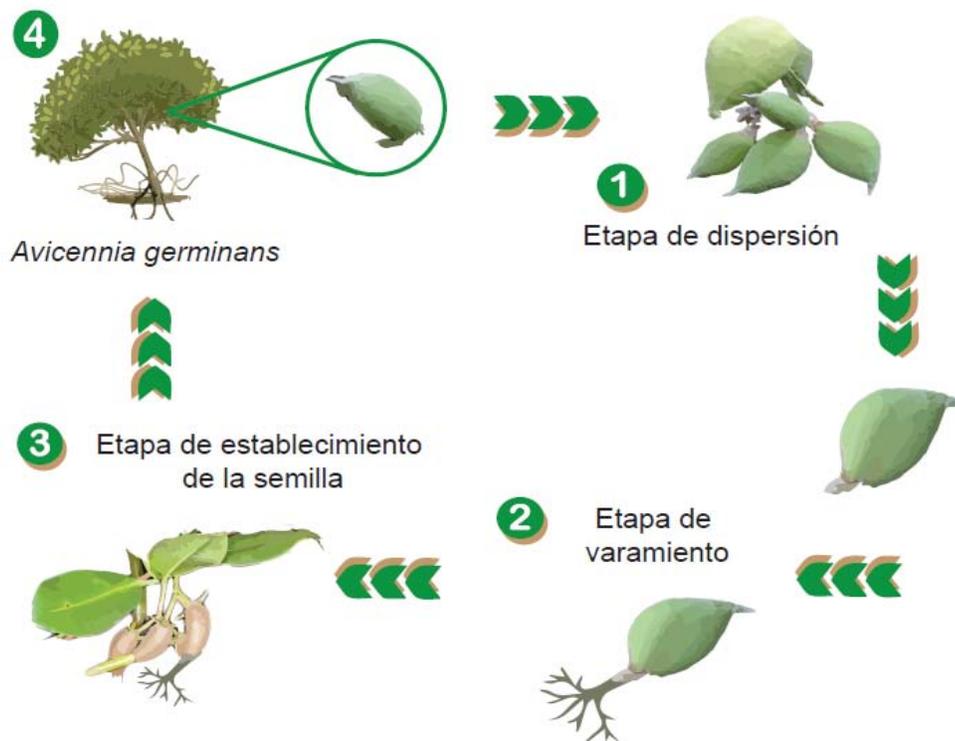


Figura 2. Ciclo de vida de *Avicennia germinans*. (Ilustración de David Rafael Rubio Jasso).

Las poblaciones de *A. germinans* poseen una importancia económica al ofrecer productos forestales, de combustión, de construcción y fuente de alimento para asentamientos humanos cercanos (Dodd *et al.* 2000; Cerón-Souza *et al.* 2012). Por otro lado, la materia orgánica vegetal desprendida por los árboles y el crecimiento superficial de las raíces, constituyen una fuente significativa de carbono orgánico hacia el sedimento, lo cual representa un tercio de la productividad primaria neta (Martínez-Ballesteros *et al.* 2013).

Conforme los asentamientos humanos han aumentado, poblaciones de *A. germinans* han sido transformadas en áreas ganaderas y de agricultura, además de zonas de crianza de peces y camarones (Holguin *et al.* 2001). Hernández-Cornejo *et al.* (2005), estudiaron los usos de los manglares en la laguna Navachiste-San Ignacio-Macapule en Sinaloa, México, encontrando un uso excesivo de las hojas y madera de *A. germinans* en construcción y comercialización de té; por lo cual se ha reportado una disminución en la extensión de esta población. Por otro lado, de acuerdo a Blanco *et al.* (2012), los manglares en Colombia se han visto afectados por la tala excesiva y la introducción y propagación de pastizales, lo que ha generado una disminución y aislamiento poblacional. *R. mangle* y *A. germinans* han sido las especies más utilizadas en construcción; cabe mencionar que los manglares más próximos a asentamientos humanos, son los más propensos a ser explotados.

A pesar de su importancia biológica y sus beneficios ecológicos, hoy en día, las poblaciones de esta especie son relativamente pequeñas y/o fragmentadas (Dodd *et al.* 2000), por lo cual algunos estudios genéticos en *A. germinans* sugieren que su diversidad genética pudo haber disminuido con el paso del tiempo (Maguire *et al.* 2000, Salas-Leiva *et al.* 2009, Nettel-Hernanz *et al.* 2013, Sandoval-Castro *et al.* 2014). Duke *et al.* (1998), estudiaron poblaciones de la familia Avicenniaceae en el Océano Indo-Pacífico, donde encontraron mayor diversidad genética entre poblaciones de *A. marina* y cambios significativos en las frecuencias génicas, valores altos de endogamia y la presencia de deriva génica, lo cual fue relacionado con la distribución continua de las poblaciones.

Por otro lado, Arnaud-Haond *et al.* (2006) reportan que las poblaciones de *A. marina*, en Vietnam, al norte de Filipinas y Australia, presentan baja diversidad y alta estructura génica, lo que se atribuye a bajos niveles de flujo génico y a la disminución del tamaño poblacional. Asimismo, Dodd *et al.* (2002) analizaron la diversidad genética existente entre poblaciones de *A. germinans* localizadas en el Océano Atlántico y el Istmo

Centroamericano (CAI). La diversidad genética resultó mayor al este del océano Atlántico, presentando una diferenciación entre las poblaciones del Atlántico y del Pacífico, lo que sugiere que el CAI tuvo una gran influencia en la distribución de las poblaciones y sigue influyendo en cuanto su dispersión.

Cerón-Souza *et al.* (2005) concluyeron que la variación genética entre poblaciones de *A. germinans* en la Costa Pacífica Colombiana, presenta una diversidad genética mayor, a la encontrada en otros sitios de distribución de la especie.

Un manejo adecuado y la conservación de los recursos naturales en ambientes fragmentados, requiere estudios que abarquen las consecuencias de la perturbación hacia las especies presentes, así como el impacto generado dentro de la estructura de la población (White y Boshier 2000, Cayuela *et al.* 2006). Con base a los conocimientos previos, este proyecto tiene como objetivo determinar las consecuencias de la fragmentación del hábitat, en la variabilidad y estructura genética de poblaciones de plántulas de *Avicennia germinans* distribuidas en diferentes costas de México.

II. OBJETIVOS

II.I Objetivo General

Determinar las consecuencias de la fragmentación del hábitat en la variabilidad y estructura genética de poblaciones de plántulas de *Avicennia germinans* distribuidas en diferentes costas de México.

II.II Objetivos Particulares

- Describir la variación genética entre las poblaciones de *A. germinans* en las costas mexicanas, con la finalidad de proponer medidas para la conservación de las poblaciones de esta especie.
- Establecer si existen diferencias genéticas entre poblaciones de *A. germinans* a lo largo del territorio mexicano, con el propósito de conocer la estructura genética entre ellas y a partir de ésta identificar unidades de conservación.

III. HIPÓTESIS

Debido a que las poblaciones de *Avicennia germinans* a lo largo de las costas mexicanas han sido explotadas por actividades humanas, reduciendo su extensión e incrementando el aislamiento geográfico y potencialmente genético entre poblaciones, se esperaría que estos procesos pudieran afectar la dispersión de los propágulos y aumentar la distancia genética conforme aumenta la distancia geográfica entre poblaciones, presentando una disminución de flujo génico y un posible aumento en la endogamia y deriva génica, generando una menor variabilidad en plántulas en poblaciones pequeñas y aisladas.

IV. MÉTODO

IV.I Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en las costas del territorio mexicano (Figura 3), en ocho poblaciones situadas en diferentes esteros de México (Tabla 1).

Tabla 1. Nombre, abreviación, ubicación y superficie de las ocho poblaciones muestreadas en las costas de México.

Población	Latitud (N) Longitud (W)	Ubicación	Clave	Superficie (ha)	Estado de conservación
El Caimanero	25.618381 - 25.275685	Sinaloa	CA	21,728**	Medio
	108-951846 - 108. 458474	Océano Pacífico			
Barra de Navidad	19.247447 - 19.101787	Jalisco y Colima	BN	622 **	Medio
	104.724031 - 104.469562	Océano Pacífico			
La Encrucijada	13.773673 - 15.650617	Chiapas	EN	29,536 *	Medio
	92.460843 - 93.342546	Océano Pacífico			
Holbox	21.603899 - 21.329444	Quintana Roo	HB	6,665 **	Alto
	87.533299 - 87.014159	Océano Atlántico			
Sian- Ka'an	18.60026 - 20.223083	Quintana Roo	SK	85,719 *	Alto
	87.409837 - 88.076704	Océano Atlántico			
Ría Lagartos	21.506536 - 21.624211	Yucatán	RL	1,595 **	Medio
	88.10508 - 88.235921	Océano Atlántico			
Cozumel	20.27159 - 20.591830	Quintana Roo	CZ	1,773 **	Alto
	86.723734 - 20.591830	Océano Atlántico			
Tuxpan	21.171224 - 20.847738	Veracruz	TX	4,520 **	Medio
	92.298963 - 97.262108	Océano Atlántico			
Total				152,158 ha	

Superficie del manglar dada por la *Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (2014) y ** Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (2010). El estado de conservación de los manglares se ha obtenido de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (2010).

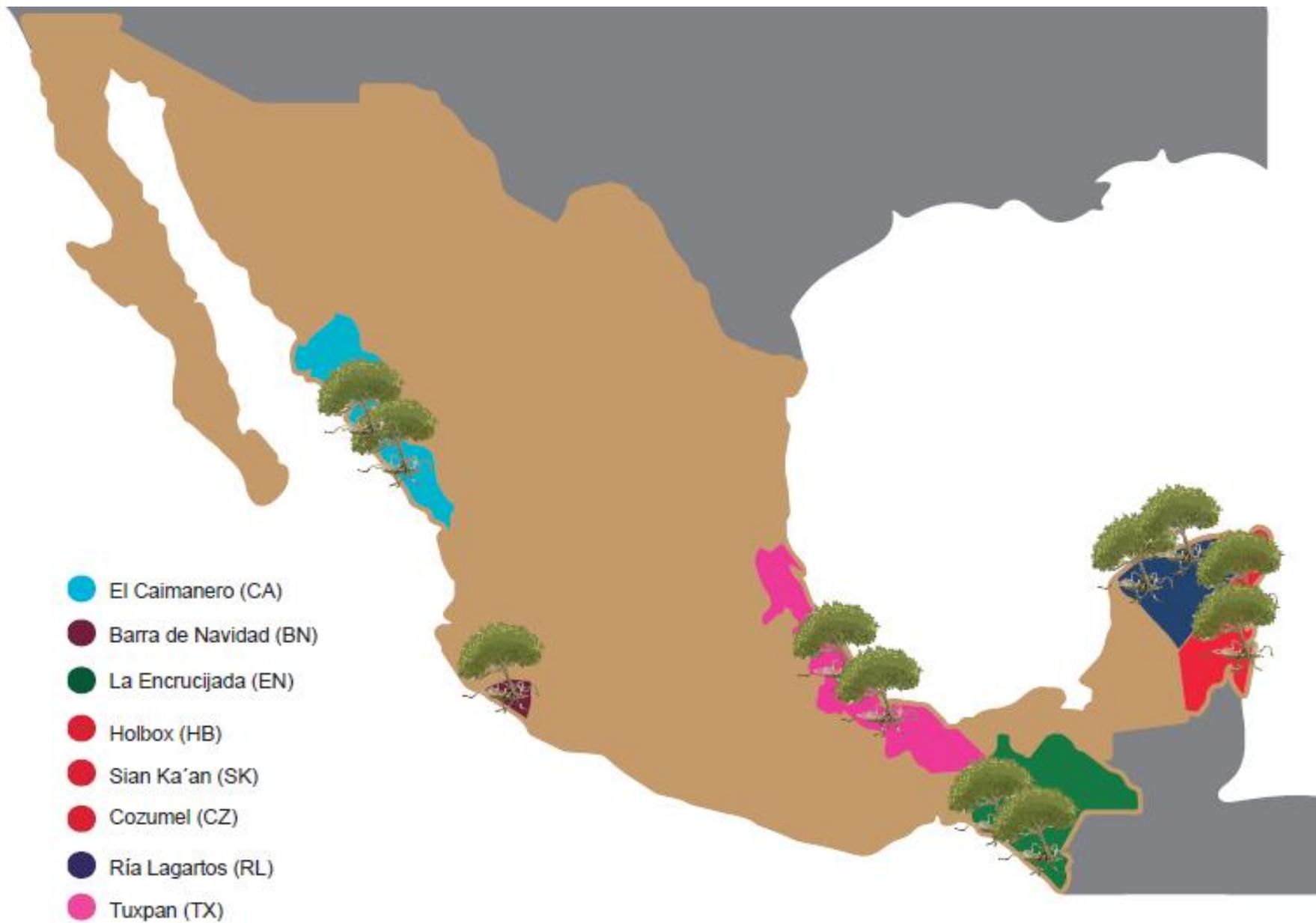


Figura 3. Localización de las poblaciones en estudio de *A. germinans* en las costas del Océano Pacífico, Golfo de México y Mar Caribe en el territorio mexicano (Ilustración de David Rafael Rubio Jasso).

IV.II Obtención de muestras

Se colectaron muestras de tejido vegetativo de *A. germinans*. En total se colectaron de tres a cinco hojas por individuo de 30 individuos jóvenes en cada una de las ocho poblaciones en estudio.

La colecta se realizó a partir de transectos de tamaño dependiente a la población (aproximadamente de dos a seis km), presentando una separación mínima entre individuos de 100 metros. Asimismo, el material vegetal colectado en campo fue almacenado en nitrógeno líquido hasta el momento de su refrigeración en el laboratorio. Las muestras se mantuvieron congeladas a -20°C previo a la extracción de ADN.

IV.III Extracción de ADN y amplificación de microsatélites

La extracción de ADN se realizó utilizando el protocolo del método de bromuro de cetil-trimetil amonio (CTAB) (Doyle y Doyle 1990) (Anexo 1).

En total se estandarizaron 18 microsatélites nucleares específicos para *Avicennia germinans* caracterizados por Nettel *et al.* (2005), Cerón-Souza *et al.* (2006, 2012) y Mori *et al.* (2010) (Tabla 2).

La amplificación de las 18 regiones (loci) microsatélites se realizó por medio de la reacción en cadena polimerasa (PCR), en volumen final de 20 µL, con distintas condiciones y ciclos (Cuadro 2). Los marcadores microsatélites fueron enviados a genotipar a la Universidad de Illinois Urbana-Champaign, Estados Unidos.

Tabla 2. Condiciones para la reacción de PCR para cada microsatélite.

Nombre del locus	No. de acceso GeneBank	Temperatura de alineamiento (T _a °C)	Secuencia repetida	Tamaño reportado de alelos (pb)	Referencia
Agerm_CT_003	DQ240231	55	[CT] ₁₄	412-516	Cerón- Souza <i>et al.</i> 2006
Agerm_CAT_004	HQ172890	55	[CAT] ₈	466-496	Cerón- Souza <i>et al.</i> 2006
AgD37	AY741806	50	[GA] ₂₁	163-197	Nettel <i>et al.</i> 2005
Agerm_CT_004	HQ172891	55	[CT] ₁₇	331-413	Cerón- Souza <i>et al.</i> 2006
Agerm_GA_003	HQ172892	55	[GA] ₁₆	334-406	Cerón- Souza <i>et al.</i> 2006
Agerm_GT_006	HQ172893	55	[GT] ₁₆	308-388	Cerón- Souza <i>et al.</i> 2006
Agerm_25	HM470026	59.6	[AC] ₇	227	Mori <i>et al.</i> 2010
Agerm_8	HM470010	65	[TG] ₉	183	Mori <i>et al.</i> 2010
AgT31	AY741800	60	[CA] ₁₂ [TA] ₂ GA[CATA] ₉	198-205	Nettel <i>et al.</i> 2005
Agerm_CA_001	DQ240220	60	[CA] ₁₃	335-391	Cerón- Souza <i>et al.</i> 2012
AgT1	AY741801	60	[GTAT] ₈	118-151	Nettel <i>et al.</i> 2005
AgD6	AY741807	50	[ATT] ₄ N ₇ [GT] ₁₅	207-260	Nettel <i>et al.</i> 2005
AgT9	AY741804	50	[CA] ₈ [GA] ₂ [CAGA] ₅	218-238	Nettel <i>et al.</i> 2005
AgT4	AY741803	50	[CATA] ₅ [CATG[CATA] ₉	79-107	Nettel <i>et al.</i> 2005
AgT8	AY741802	50	[TGTA] ₆	104-112	Nettel <i>et al.</i> 2005
Agerm_CTT_001	DQ240228	55	[CTT] ₈	114-141	Cerón- Souza <i>et al.</i> 2012
Agerm_CA_002	DQ240230	55	[CA] ₁₂	310-346	Cerón- Souza <i>et al.</i> 2012
Agerm_GT_003	DQ240227	55	[GT] ₁₇	462-512	Cerón- Souza <i>et al.</i> 2012

IV. IV Análisis Estadísticos

- **Variación genética**

Para conocer la variación genética dentro y entre poblaciones se estimó, para cada población, el número promedio de alelos por locus y riqueza alélica (A), al igual que la proporción de loci polimórficos (P). Se calculó la heterocigosidad esperada (H_E) y la observada (H_O) por locus, por población (H_S) y a nivel especie (H_T), así como las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg ($H-W$) para cada locus, evaluadas con pruebas exactas por medio del método de cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), con 10,000 desmemorizaciones, 20 batches (tratamientos por lote) y 10,000 interacciones por tratamiento, con el programa GENEPOP versión 4.5 (Rousset 2008). Las desviaciones del equilibrio de $H-W$ para todos los loci en conjunto se evaluaron en cada población usando el método de Fisher.

Se analizó la presencia de alelos nulos con el software MicroChecker versión 2.2.3 (Oosterhout *et al.* 2004), por medio del método de Brookfield (1996). Este programa puede identificar si existe una deficiencia de heterocigos debido a endogamia, efecto Wahlund o alelos nulos (Van Oosterhout *et al.* 2004).

Por otra parte, la prueba de disequilibrio de ligamiento se realizó por la estimación de la independencia de genotipos por cada par de loci dentro de cada población, utilizando una aproximación del método de MCMC con condiciones iniciales de 10,000 dememorizaciones, 10 batches y 10,000 interacciones por tratamiento, con el programa GENEPOP versión 4.5 (Rousset 2008).

Se realizó la estimación del coeficiente de endogamia para *A. germinans* (F_{IT}) y para cada población y para cada locus (F_{IS}) de acuerdo a las ecuaciones de Nei (1987), con el programa ARLEQUIN versión 3.5 (Excoffier y Lischer 2010).

Se utilizó el programa BOTTLENECK (Piry *et al.* 1999) para detectar cuellos de botella utilizando los modelos de mutación paso a paso (SMM) y mutación en dos fases (TPM); el análisis incluye tres pruebas estadísticas, de significancia, de diferencia estandarizada y de Wilcoxon, además, se programaron 10,000 repeticiones para calcular el nivel de significancia.

- **Estructura genética**

La estructura genética fue descrita con el programa ARLEQUIN versión 3.5 (Excoffier y Lischer 2010), al calcular la medida de diferenciación genética R_{ST} que es equivalente a la F_{ST} de Wright. Esta medida de diferenciación es más recomendada al estimar estructuración cuando se utilizan microsatélites, debido a que considera el modelo de mutación paso por paso (*Stepwise Mutation Model*, SMM) y el tamaño de los alelos al calcular la varianza (Michalakis y Excoffier 1996). Se obtuvo un dendograma partiendo de la distancia genética de Nei con el programa TFPGA versión 1.3 (Miller 1997).

Cabe mencionar, que se realizó un análisis de varianza molecular espacial (SAMOVA) con el programa SAMOVA versión 2.0 (Dupanloup 2002); este análisis integra las coordenadas geográficas para determinar una organización que explique la variación y estructuración de las poblaciones a partir de la estructura geográfica. Se utilizaron las condiciones predeterminadas por el programa partiendo de $K = 2$ a $K = 7$, donde K es el número de grupos posibles.

Se estimó el número de migrantes por generación (Nm) al obtener el número efectivo de migrantes de acuerdo a Slatkin (1985), basada en la utilización de alelos únicos (exclusivos o privados) y usando los valores de R_{ST} : $Nm \approx (1-R_{ST}) / (4R_{ST})$.

Con el programa GENECLASS versión 2.0 (Piry *et al.* 2004), se calculó el número de migrantes entre poblaciones teniendo en cuenta la precisión de asignación de individuos en dichas poblaciones; la detección de migrantes en primera generación se calculó con la probabilidad de: $L = L_{\text{home}} / L_{\text{max}}$, por el método bayesiano de Rannala y Mountain (1997), con una probabilidad de 100,000 individuos y una probabilidad de 0.001.

Se efectuó un análisis de correlación entre distancia genética (R_{ST}) y distancia geográfica con el programa XLSTAT (Addinsoft 1995-2007), con la finalidad de describir la acumulación de diferencias genéticas poblacionales tomando en cuenta una dispersión geográfica restringida (Tejada *et al.* 2013). Para determinar su asociación, se realizó una prueba de Mantel con 10,000 permutaciones, que compara directamente las matrices de distancia genética y geográfica, y evalúa si dichas matrices presentan correlación o no al mostrar la relación del flujo génico entre pares de poblaciones, e inferir la posible existencia de endogamia y deriva génica.

V. RESULTADOS

▪ Variación genética

Se analizaron un total de 240 individuos de ocho poblaciones. La H_T de *A. germinans* fue de 0.589 con un polimorfismo de 0.816. El número total de alelos fue de 240, mientras que el número promedio de alelos por locus fue de 7.75. El coeficiente de endogamia para todas las poblaciones fue alto y significativamente diferente de cero ($F_{IT} = 0.485$; $p = 0.001$), lo que sugiere un déficit global de heterocigos en cada población.

Los dieciocho microsatélites analizados en esta investigación fueron todos polimórficos en las poblaciones El Caimanero, Barra de Navidad, Holbox y Sian Ka'an; mientras que, para La Encrucijada, tres de los marcadores resultaron monomórficos (Agerm_8, AgD6 y AgT9); en Ría Lagartos (AgT4), Cozumel (Agerm_25) y Tuxpan (AgD6) sólo uno de ellos no presentó variación alguna (Anexo 2). Las poblaciones con una mayor proporción de loci polimórficos son El Caimanero, Barra de Navidad y Sian Ka'an ($P = 1.0$), mientras que La Encrucijada y Tuxpan ($P = 0.833$) son las poblaciones con el nivel más bajo de polimorfismo (Tabla 3).

Se calculó la variabilidad genética por medio de H_s , que resultó mayor que H_i en la mayoría de las poblaciones a excepción de La Encrucijada ($H_o = 0.564$) y Ría Lagartos ($H_o = 0.576$); siendo Cozumel ($CZ = 0.664$) la población con mayor variabilidad genética, seguida de Sian Ka'an ($SK = 0.657$), Holbox ($HB = 0.591$) y Tuxpan ($TX = 0.591$). Las poblaciones que presentan una menor variabilidad genética son Ría Lagartos ($RL = 0.558$), seguida de La Encrucijada ($EN = 0.554$) y por último la población con menos variación es El Caimanero ($CA = 0.526$). Al realizar el análisis de Hardy-Weinberg por población se observó que las ocho poblaciones presentaron desviaciones significativas del equilibrio (Tabla 3).

Los valores del coeficiente de endogamia (F_{IS}) sugieren que las ocho poblaciones presentaron deficiencia de heterocigos significativa, con valores de 0.068 hasta 0.876. El valor más alto de F_{IS} fue dentro de la población de Cozumel (0.420), mientras que el más bajo fue en Tuxpan (0.347). Todos fueron significativamente diferentes de cero ($p < 0.05$), es decir que es probable que haya endogamia dentro de las poblaciones o una estructuración en las poblaciones posiblemente debido al efecto Wahlund (Tabla 3).

Tabla 3. Medidas de variabilidad genética para las ocho poblaciones de *A. germinans* a lo largo del territorio mexicano. *N* = Número de individuos por población; *H_s* = Heterocigosidad esperada; *H_i* = Heterocigosidad observada; *P* = Polimorfismo; *N_a* = Número promedio de alelos por locus; *F_{IS}* = coeficiente de endogamia; **p* < 0.05.

Población	<i>N</i>	<i>H_s</i>	<i>H_i</i>	<i>P</i> (0.95)	<i>N_a</i>	<i>F_{IS}</i> (<i>p</i>)
CA	30	0.526	0.353	1.00	6.94	0.39 (0.065)
BN	30	0.571	0.477	1.00	7.33	0.37 (0.016)*
EN	30	0.554	0.564	0.833	5.66	0.372 (0.01)*
HB	30	0.591	0.417	0.888	8.16	0.369 (0.059)
SK	30	0.657	0.459	1.00	7.83	0.361 (0.127)
RL	30	0.558	0.576	0.888	7.27	0.383 (0.035)*
CZ	30	0.664	0.396	0.944	8.77	0.42 (0.406)
TX	30	0.591	0.448	0.833	10.11	0.347 (0.029)*

CA = El Caimanero; BN = Barra de Navidad; EN = La Encrucijada; HB = Holbox; SK = Sian Ka'an; RL = Ría Lagartos; CZ = Cozumel; TX = Tuxpan.

Por otro lado, se observó la presencia de alelos nulos para los dieciocho microsatélites en las ocho poblaciones estudiadas, en un rango de 0.012 (Agerm_CTT_001) hasta 0.159 (AgD37). Al no encontrar valores significativos (> 0.2), se sugiere que los alelos nulos no son relevantes para explicar una deficiencia de heterocigos. En las poblaciones, la frecuencia promedio de alelos nulos fue de 0.117 para El Caimanero, seguido de 0.096 en Holbox, 0.087 en La Encrucijada, 0.085 en Cozumel, 0.081 en Sian Ka'an, 0.069 en Tuxpan, 0.064 en Ría Lagartos y 0.055 en Barra de Navidad (Anexo 3).

Se detectó un cuello de botella bajo dos modelos de mutación (TPM y SMM). Los resultados sugieren que hay una desviación del equilibrio mutación-deriva ($H_E > H_{EQ}$) dentro de todas las poblaciones (Anexo 4). Las pruebas estadísticas indican que existe un exceso significativo de heterocigos para las ocho poblaciones, lo que sugiere que estas poblaciones han pasado por cuellos de botella (Tabla 4). Los resultados obtenidos con el modelo TPM (prueba de significancia y de Wilcoxon) sugieren un cuello de botella en las poblaciones El Caimanero, Barra de Navidad y La Encrucijada, mientras que el modelo SMM sugiere un cuello de botella en la mayoría de las poblaciones (prueba de Wilcoxon).

Se observó que todas las poblaciones y todos los loci analizados se encuentran en desequilibrio de ligamiento. La población con mayor número de comparaciones significativas de desequilibrio es Ría Lagartos (24), seguida de Tuxpan (12) y Barra de Navidad (10); mientras que El Caimanero, La Encrucijada y Cozumel (9 comparaciones), Sian Ka'an (7 comparaciones) y finalmente Holbox (3 comparaciones) presentan pocos casos de desequilibrio. El locus Agerm_CT_003 presenta desequilibrio de ligamiento

respecto a una mayor cantidad de loci, en total 9, seguido de Agerm_CAT_004, Agerm_GT_006 y Agerm_8 con 8 loci cada uno (Anexo 5). Sólo cuatro loci presentaron exceso de heterocigos: Agerm_GA_003, AgT9, Agerm_CTT_001 y Agerm_CA_002, para todas las poblaciones. El coeficiente de endogamia (F_{IS}) más alto lo presentó el locus Agerm_25 (0.652), seguido de Agerm_CT_004 (0.632) y Agerm_8 (0.556), mientras que los más bajos son los loci AgD37 (0.11), Agerm_CA_002 (0.059) y Agerm_GA_003 (0.034; Anexo 2).

Los loci AgT31, Agerm_CA_001, AgT9, Agerm_CTT_001, Agerm_GT_003 coinciden en que Cozumel es la población que presenta los niveles más altos de H_E , mientras que Agerm_CT_003, Agerm_CAT_004, AgT31, Agerm_CTT_001 sugieren que El Caimanero es la población con los niveles de H_E más bajos.

Tabla 4. Estimación de cuellos de botella de acuerdo al modelo de mutación en dos fases (TPM) y paso a paso (SMM). En gris se observan los valores de p significativos. $n = 2N$; k_o = número de alelos; H_E = heterocigosidad esperada; p = valor de significancia ($*p < 0.05$).

	n	K_o	H_E	Prueba de significancia		Prueba de diferencias estandarizada		Prueba de Wilcoxon	
				p_{TPM}	p_{SMM}	p_{TPM}	p_{SMM}	p_{TPM}	p_{SMM}
CA	60	6.94	0.536	0.001	0.00003	0.000	0.000	0.0002	0.00005
BN	60	7.33	0.581	0.001	0.00003	0.000	0.000	0.002	0.00007
EN	60	5.67	0.564	0.579	0.101	0.376	0.00001	0.761	0.302
HB	60	8.17	0.601	0.094	0.0005	0.00002	0.000	0.059	0.0006
SK	60	7.83	0.668	0.480	0.164	0.006	0.000	0.369	0.053
RL	60	7.33	0.569	0.164	0.005	0.081	0.000	0.132	0.00005
CZ	60	8.78	0.676	0.094	0.000006	0.048	0.000	0.073	0.001
TX	60	10.11	0.601	0.0005	0.000	0.000	0.000	0.0001	0.000008

CA = El Caimanero; BN = Barra de Navidad; EN = La Encrucijada; HB = Holbox; SK = Sian Ka'an; RL = Ría Lagartos; CZ = Cozumel; TX = Tuxpan.

- **Estructura genética**

Al realizar el análisis de la prueba exacta de diferenciación poblacional se observaron valores de R_{ST} entre 0.339 a 0.977, siendo todos significativos ($p < 0.05$), lo que indica que existe alta diferenciación genética entre todas las comparaciones entre poblaciones (Tabla 5).

Se estimaron los valores de distancia genética de Nei, que presentaron un gradiente de 0.244 hasta 0.852 (Anexo 6). En el dendograma obtenido con el algoritmo *Neighbor-joining* a partir de las distancias genéticas de Nei (Figura 4) se observan cuatro grupos diferentes. El grupo compuesto por Cozumel y Ría Lagartos tienen el soporte estadístico más alto (68%); así mismo, se observa la cercanía entre Barra de Navidad y El Caimanero con una consistencia del 33%, a diferencia de su relación en conjunto con La Encrucijada (45%), seguidos del conjunto entre Sian Ka'an y Holbox (26%). Los resultados sugieren que Tuxpan es la población que más se diferencia de todas las poblaciones.

La distancia genética presenta una correlación positiva y significativa ($R^2 = 0.578$; $p = 0.02$) con la distancia geográfica, de manera que a mayor distancia observamos que hay niveles más altos de diferenciación, por lo tanto, se apoya el modelo de aislamiento por distancia (Figura 5). Sin embargo, no existe una correlación entre el flujo génico y la distancia geográfica.

Tabla 5. Valores de R_{ST} . Método de distancia: suma de diferencias de tamaño cuadradas. Debajo de la diagonal valores de R_{ST} ; por encima de la diagonal valores de p . (Valor de significancia $p < 0.05$).

	CA	BN	EN	HB	SK	RL	CZ	TX
CA	0.000	0.028	0.039	0.007	0.015	0.0007	0.0002	0.0005
BN	0.612	0.000	0.044	0.016	0.005	0.021	0.006	0.019
EN	0.977	0.962	0.000	0.031	0.036	0.0007	0.042	0.032
HB	0.961	0.944	0.450	0.000	0.041	0.034	0.013	0.093
SK	0.709	0.483	0.975	0.956	0.000	0.023	0.0007	0.0007
RL	0.896	0.625	0.976	0.955	0.801	0.000	0.008	0.006
CZ	0.858	0.850	0.541	0.571	0.849	0.864	0.000	0.041
TX	0.774	0.441	0.958	0.339	0.537	0.842	0.842	0.000

CA = El Caimanero; BN = Barra de Navidad; EN = La Encrucijada; HB = Holbox; SK = Sian Ka'an; RL = Ría Lagartos; CZ = Cozumel; TX = Tuxpan.

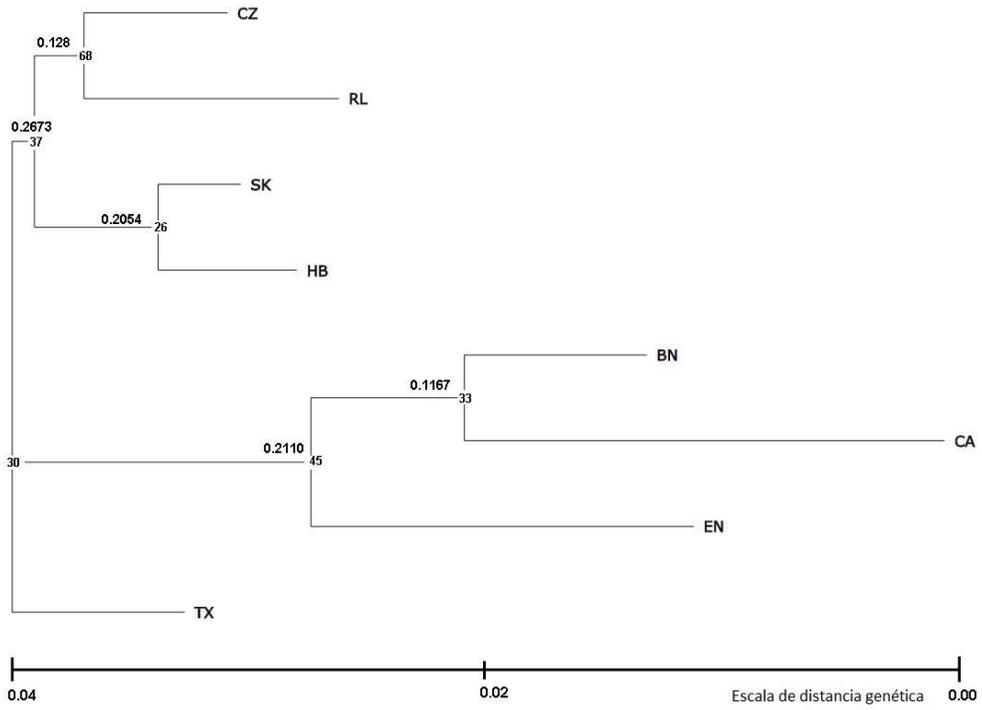


Figura 4. Dendrograma calculado con el algoritmo *Neighbor-joining* a partir de los valores de distancia genética de Nei entre las ocho poblaciones de *A. germinans*.

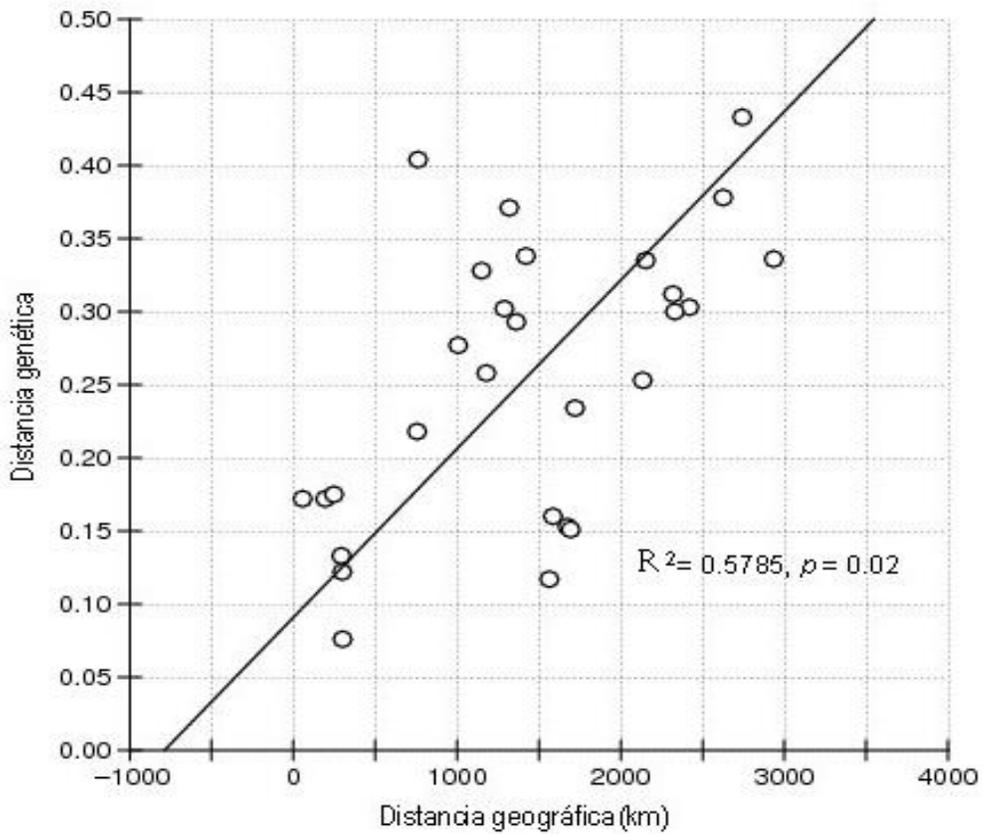


Figura 5. Relación entre la distancia geográfica (km) y la distancia genética (R_{ST}) calculada a través de una prueba de Mantel.

En poblaciones de *A. germinans*, cuando $K = 4$, encontramos un valor de Φ_{CT} menor y significativo ($p = 0.001$) comparado con las demás K , lo cual propone que las poblaciones se distinguen en cuatro grupos: (1) grupo 1: Barra de Navidad, Sian Ka'an, Holbox y Cozumel; (2) grupo 2: La Encrucijada y Tuxpan; (3) grupo 3: Ría Lagartos; (4) grupo 4: El Caimanero. Sin embargo, cabe mencionar que todos los valores de K fueron significativos ($p < 0.05$; Tabla 7).

El número de migrantes por generación (Nm) con respecto a los valores de R_{ST} se encuentra en un rango de 0.00573 a 0.26715 (Tabla 6). El flujo génico entre poblaciones resultó bajo ya que todas las comparaciones entre poblaciones presentan un número de migrantes menor a uno.

Por otra parte, se registró un migrante de la población Holbox (HB) a Sian Ka'an (SK; $p < 0.05$) con el 21% de asignación a SK, por lo cual se supone que el flujo génico entre poblaciones es bajo.

Tabla 6. Matriz con valores de flujo génico ($Nm = 1 - R_{ST}/4R_{ST}$)

	CA	BN	EN	HB	SK	RL	CZ	TX
CA	0.000							
BN	0.158	0.000						
EN	0.005	0.009	0.000					
HB	0.01	0.014	0.304	0.000				
SK	0.102	0.267	0.006	0.011	0.000			
RL	0.028	0.149	0.006	0.011	0.062	0.000		
CZ	0.041	0.043	0.211	0.187	0.044	0.039	0.000	
TX	0.072	0.316	0.01	0.486	0.215	0.046	0.046	0.000

CA = El Caimanero; BN = Barra de Navidad; EN = La Encrucijada; HB = Holbox; SK = Sian Ka'an; RL = Ría Lagartos; CZ = Cozumel; TX = Tuxpan.

Tabla 7. Porcentajes de variación en niveles jerárquicos estimados en cada grupo K para *A. germinans*. Φ_{CT} = varianza entre grupos con respecto a la varianza total. * $p < 0.05$ = valor de significancia.

K	Estructura (población en cada grupo)	Entre poblaciones dentro de grupos	Dentro de poblaciones	Entre grupos	$\Phi_{CT} (p)$
2	Grupo 1(EN, RL, TX) Grupo 2 (CA, BN, HB, SK, CZ)	7.24	10.41	82.35	0.823 (0.017)
3	Grupo 1 (EN, TX) Grupo 2 (CA, BN, HB, SK, CZ) Grupo 3 (RL)	7.76	7.02	85.22	0.852 (0.008)
4	Grupo 1 (BN, HB, SK, CZ) Grupo 2 (EN, TX) Grupo 3 (RL) Grupo 4 (CA)	9.14	5.50	85.36	0.853 (0.0009)*
5	Grupo 1 (RL) Grupo 2 (EN, TX) Grupo 3 (CA) Grupo 4 (HB) Grupo 5 (BN, SK, CZ)	10.33	5.08	84.59	0.845 (0.0019)
6	Grupo 1 (TX) Grupo 2 (EN) Grupo 3 (BN, SK, CZ) Grupo 4 (HB) Grupo 5 (RL) Grupo 6 (CA)	10.7	5.80	83.50	0.835 (0.038)
7	Grupo 1 (EN) Grupo 2 (BN, SK) Grupo 3 (HB) Grupo 4 (TX) Grupo 5 (CZ) Grupo 6 (RL) Grupo 7 (CA)	11.4	6.30	82.30	0.822 (0.011)

CA = El Caimanero; BN = Barra de Navidad; EN = La Encrucijada; HB = Holbox; SK = Sian Ka'an; RL = Ría Lagartos; CZ = Cozumel; TX = Tuxpan.

VI. DISCUSIÓN

Debido a que la pérdida de variabilidad genética tiene un impacto negativo sobre la viabilidad y adaptabilidad de las especies (Young *et al.* 1996; Parrent *et al.* 2004; Ochoa *et al.* 2012), es importante comprender la participación de las fuerzas evolutivas (Hedrick 2005) dentro y entre poblaciones, con la finalidad de entender los aspectos históricos y actuales que influyen en el funcionamiento y en la estructura de las poblaciones (Hedrick 2005; Castellanos 2009). En hábitats fragmentados, las poblaciones se ven comúnmente afectadas por actividades antropogénicas, situación que frecuentemente acelera la disminución de variabilidad genética y acelera la diferenciación y estructuración genética (Ellstrand y Elam 1993; Young *et al.* 1996; Giri *et al.* 2011).

Para comprender las consecuencias de la fragmentación en un hábitat es importante realizar trabajos sobre la variabilidad genética de distintas especies y entre poblaciones de una especie; tal es el caso de los manglares. En México se ha realizado un estudio de genética poblacional con individuos adultos de *Avicennia germinans* (Sandoval-Castro *et al.* 2014), siendo esta tesis el primer estudio que se realiza con plántulas de ésta especie. Esto implica conocer la información genética de los individuos jóvenes que conforman las poblaciones de *A. germinans* y a su vez inferir los factores que han influido en la actual dinámica poblacional (Rabinowitz 1978; Delgado *et al.* 2001).

La variabilidad genética de las plántulas de *A. germinans* es alta ($H_T = 0.589$) en comparación con los resultados obtenidos en adultos de esta misma especie (Sandoval Castro *et al.* 2014; $H_T = 0.26$). Asimismo, se observó que el número de alelos registrados para esta especie en las costas mexicanas fue alto. Sandoval-Castro *et al.* (2014), encontraron 93 alelos en *A. germinans*, de los cuales 35.5% corresponde al Atlántico, 35.5% al Pacífico y 29% en común para ambas costas, en contraste con los 240 alelos encontrados en este estudio, de los cuales, 63.4% pertenecen al Atlántico, 30% al Pacífico y 6.6% en común; cabe mencionar que el uso de los microsatélites específicos utilizados en ambas investigaciones difiere en número, siendo de siete y 18, respectivamente. Estos altos niveles de variación genética pueden relacionarse con la etapa de desarrollo de la especie, ya que no todas las plántulas sobreviven y se reproducen, sin embargo, al muestrearse en esta etapa de desarrollo se pueden obtener variaciones genéticas que no encontramos en individuos adultos; además, es importante considerar el efecto de los altos niveles de polimorfismo arrojados por los microsatélites utilizados dentro de la investigación. El uso de microsatélites es relevante para la

estimación de variación genética, ya que los valores de H_E y A obtenidos con otros marcadores para el género *Avicennia* (Dodd *et al.* 2002; Giang *et al.* 2003; Cerón-Souza *et al.* 2006) son menores a los obtenidos con este marcador.

Por otro lado, las diferencias encontradas entre plántulas y adultos de *A. germinans* puede deberse principalmente a las diferencias entre las áreas geográficas en las que se localizan las poblaciones estudiadas en cada una de las investigaciones; además, las características geográficas en las costas del Océano Pacífico no permiten la formación de muchas lagunas costeras, a diferencia del Océano Atlántico. Es importante considerar las diferencias morfológicas entre los manglares del Mar Caribe, en donde se aprecian individuos frondosos y altos, y del Océano Pacífico, que son individuos de menor tamaño, pigmentación opaca y menor cantidad de hojas y ramas (Clarke *et al.* 1991, Salazar-Vallejo 2000), características posiblemente relacionadas a las variantes genéticas persistentes en determinado hábitat.

Todas las poblaciones se encontraron fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg debido a una deficiencia de heterocigos. Una desviación significativa del equilibrio sugiere que tanto la deriva génica como la endogamia y la selección natural están actuando en las poblaciones (Castellanos 2009; Fox y Reed 2010). Los valores del coeficiente de endogamia (F_{IS}) indicaron valores significativos para 14 loci en las ocho poblaciones; es importante resaltar que estos valores son mayores a los reportados para *A. germinans* en los estudios realizados en adultos por Salas-Leiva *et al.* (2009), Cerón-Souza *et al.* (2012) y Nettel *et al.* (2013), alrededor de las costas del Pacífico y Atlántico. Los niveles de F_{IS} distintos y mayores en plántulas respecto a los adultos, sugieren que la selección natural puede estar eliminando a los individuos con mayor endogamia, reduciendo su número en la población adulta. Sin embargo, si la fragmentación ha reducido el número de parejas potenciales, puede aumentar la endogamia y esto podría ser el resultado de apareamiento entre parientes (Marone *et al.* 2002; Zhou *et al.* 2011).

Si consideramos que los manglares son susceptibles a cambios ambientales, la perturbación en las poblaciones de *A. germinans*, además de ocasionar un aislamiento entre ellas, puede afectar la dinámica de dispersión de los propágulos. Por lo tanto, podemos asociar altos niveles de F_{IS} a efectos negativos de la deriva génica en poblaciones pequeñas o a la fragmentación del hábitat, así como un apareamiento panmíctico dentro de las poblaciones (Bacón 1993; Charlesworth y Willis 2009; Fox y Reed 2010), un cuello de botella y/o escaso flujo génico. La evidencia de desequilibrio de

ligamiento en las poblaciones de *A. germinans* indica que no hay apareamientos al azar, lo cual se relaciona a su vez con los altos niveles de F_{IS} en cada una de las poblaciones. Asimismo, al presentarse una reducción en el tamaño poblacional, la deriva génica causaría fluctuaciones aleatorias de las frecuencias alélicas ocasionando un aumento de desequilibrio de ligamiento (Kimura y Ohta 1971; Ohta 1982; Slatkin 2008).

Las poblaciones Cozumel, Sian Ka'an y Holbox presentaron altos niveles de H_S (0.6641, 0.6573 y 0.5916, respectivamente), en comparación con Tuxpan, Barra de Navidad, Ría Lagartos, La Encrucijada y El Caimanero (0.5915, 0.5585, 0.5547 y 0.5267, respectivamente). Sin embargo, estos valores de H_S son mayores a los obtenidos para *A. germinans* por Cerón-Souza *et al.* (2006) y Salas-Leiva *et al.* (2009) en Colombia, y Sandoval-Castro *et al.* (2014) en México. Los resultados obtenidos sugieren que, al encontrar altos niveles de F_{IS} en cada una de las poblaciones, así como altos niveles de H_S , las poblaciones se han visto expuestas a cuellos de botella intensos por un periodo de tiempo corto (Allendorf y Luikart 2008).

De acuerdo a Cerón-Souza *et al.* (2012) y Salas-Leiva *et al.* (2009), las poblaciones de *A. germinans* en el mar Caribe, presentan un nivel de heterocigosidad mayor a las de la costa del Pacífico, lo cual coincide con los resultados aquí obtenidos. Estas diferencias genéticas entre costas pueden deberse al impacto antropogénico que las áreas han sufrido (Hirales-Cota *et al.* 2010). A pesar de que las poblaciones de *A. germinans* en el Golfo de México y el Caribe mexicano se han visto devastadas por el desarrollo turístico acelerado (Hirales-Cota *et al.* 2010), en el Océano Pacífico los bosques de mangle negro son utilizados para fines de crecimiento urbano y agropecuario (Romero-Berny *et al.* 2015), además de contar con menos áreas protegidas de manglares y por lo tanto presentar tasas elevadas de deforestación para el crecimiento turístico (Carrillo-Bastos *et al.* 2008; Hirales-Cota *et al.* 2010). Asimismo, las diferencias en diversidad genética entre costas podrían ser históricas, antes del cierre del Istmo centroamericano hace aproximadamente 3.5 millones de años (Dodd *et al.* 2002).

Las poblaciones de *A. germinans* han experimentado reducción en su tamaño efectivo poblacional a causa de un cuello de botella. Los resultados coinciden con la historia de estas poblaciones; antes eran más extensas y continuas y, con el paso del tiempo, han sufrido fragmentación a causa de actividades antropogénicas (Blanco *et al.* 2012). La fragmentación de las poblaciones de mangle negro está registrada desde los años 1950 a la fecha (Calderón *et al.* 2009; Blanco *et al.* 2012). En Barra de Navidad, el

impacto negativo más sobresaliente en la población de mangle negro fue la construcción del aeropuerto internacional de Manzanillo al sur del sitio del manglar, además, la construcción de hoteles data desde 1960 y el aumento de la actividad turística fue de 1970 a 1990 (Téllez-García y Valdez-Hernández 2012). La Encrucijada, es considerado como el estuario con mayor productividad y mejor desarrollado del Pacífico, sin embargo, existen zonas de presión ganadera sobre el corredor de manglar desde 1972 (Orihuela *et al.* 2004); dentro de El Caimanero se ha excedido la deforestación para la construcción y asentamientos humanos, además de continuos establecimientos de granjas camaroneras e industrias salineras que ocasionan cambios en la calidad de agua (Navarro-Rodríguez *et al.* 2010). En Cozumel la deforestación de *A. germinans* por parte de los asentamientos humanos cercanos (Zaldívar-Jiménez *et al.* 2004; Moreno 2013) ha ocasionado pérdida de extensión geográfica, así como la construcción de zonas hoteleras. En Sian Ka'an, a pesar de ser patrimonio natural, el aumento de las actividades socioeconómicas como la pesca, el turismo, la agricultura y ganadería han contribuido a la disminución de poblaciones de esta especie (Smardon 2009). En Holbox, los cambios de uso de suelo y la afectación de calidad de agua debido a los excesos de sedimentos de la deforestación ocasionan una pérdida significativa dentro de las poblaciones de mangle negro (Rodríguez-Zuñiga 2000; Moreno 2013). En Tuxpan existe un daño por embarcaciones petroleras y descarga de aguas residuales (Williams-Linera *et al.* 2002; Utrera-López y Moreno-Casasola 2008). En Ría Lagartos, la población de *A. germinans* es utilizada como combustible aumentando los niveles de contaminación en el estero, además, existe una acentuación en la construcción de carreteras y hoteles (Agraz-Hernández *et al.* 2009).

Por todo lo anterior, las evidencias de pérdida de variabilidad genética debido a cuellos de botella, se relacionan además a los altos niveles de endogamia (Arnaud-Haond *et al.* 2006), posible baja densidad de polinizadores, ocasionada por la modificación y reducción de zonas de nidificación y fuente de alimento, así como a las restricciones ambientales, como la temperatura, salinidad, niveles de inundación, entre otros, que afectan la propagación de semillas (Rabinowitz 1978; Delgado *et al.* 2001). Para discernir entre los patrones actuales e históricos que pueden explicar el cuello de botella, es necesario realizar análisis con otros marcadores moleculares como los SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) que permiten una estimación con más detalle de la variabilidad genética (Frankham *et al.* 2005; Väli *et al.* 2008).

La diferenciación genética presentó valores significativos para todas las

poblaciones. Hernández-Cornejo *et al.* (2005) reportaron que se pueden observar altos niveles de diferenciación genética en lugares donde las poblaciones se vieron fragmentadas por eventos antropogénicos, como es el caso del género *Avicennia*. Cerón-Souza *et al.* (2012) y Sandoval-Castro *et al.* (2014) encontraron niveles altos de diferenciación en poblaciones de mangle negro, la cual se ha atribuido a la geomorfología de las costas, así como a la capacidad de dispersión de los propágulos, la cual se ve restringida cuando la distancia aumenta (Cerón-Souza *et al.* 2012); esto conlleva a una estructuración significativa entre poblaciones. Cabe mencionar, que la diferenciación genética entre las poblaciones de la presente investigación, presentó una correlación significativa con la distancia geográfica, sin embargo, el escaso flujo génico no mostró relación significativa con la distancia geográfica, lo cual puede atribuirse al hecho de que los propágulos se estén dispersando adecuadamente, sin embargo, es posible que no se establezcan o no sobrevivan debido a las condiciones climáticas y meteorológicas, así como a las condiciones específicas del suelo en cada una de las poblaciones, ya que estas condiciones pueden no ser las necesarias para el establecimiento de las semillas (Rabinowitz 1978; Delgado 2001; Wlasiuk *et al.* 2003).

Es importante mencionar que el modelo de equilibrio mutación-deriva establece que un migrante por población es suficiente para mantener homogeneidad y conectividad entre poblaciones. Sin embargo, otros autores han sugerido que de tres a cinco individuos son necesarios para prevenir una diferenciación genética (Wright 1969; Lacy 1987; Young y Clarke 2000). Es preciso señalar que el flujo génico se considera un factor primordial en el mantenimiento de la variabilidad genética (Wright 1943; Rousset 1997; Hedrick 2005), porque tiene el potencial de homogenizar las poblaciones y minimizar los efectos de la deriva génica y la endogamia, es decir, reduce el impacto de la fragmentación del hábitat (Cintrón y Scheaffer-Novelli 1984; Jiménez 1992; Escamilla 2011). No obstante, se sugiere un efecto de la deriva génica, ya que este proceso contrarresta los efectos del flujo génico y en poblaciones pequeñas se observa una disminución abrupta de alelos (Frankham *et al.* 2002).

El análisis de estructura genética señala de forma significativa que la mayor parte de la variación genética total fue atribuible entre los grupos (Cuadro 7). Además el dendograma mostró nodos con soportes de las ramas estadísticamente robustos para los cuatro grupos diferentes que se conformaron (Figura 4), por lo que se propone que las poblaciones de *A. germinans* presentan una estructuración definida, lo cual puede ser resultado del escaso flujo génico entre poblaciones y la conectividad previa a la

fragmentación del hábitat, así como la presión de la deriva génica, que detectamos por las reducciones del tamaño poblacional, y la endogamia que han deteriorado la variabilidad genética. Cabe señalar que se han realizado traslados de plántulas de *A. germinans* de Quintana Roo a Veracruz, Colima y Nayarit, con la intención de recuperar la extensión de los manglares (Martínez-García observación directa en campo), esto se refleja en los resultados de los análisis de los genotipos. Sin embargo, es probable que la asignación se deba a la similitud de las frecuencias alélicas de los individuos y no por ser estrictamente procedentes de la misma área geográfica (Jiménez 1992; Yáñez *et al.* 1993; Castellanos 2009).

De acuerdo a los conocimientos previos a la realización de esta investigación, se esperaba encontrar una menor variación genética en las poblaciones colindantes con el Océano Pacífico, así como en Cozumel, debido a las continuas intervenciones antropogénicas en estas zonas. Los resultados obtenidos reafirman estos supuestos, ya que Barra de Navidad y El Caimanero son poblaciones altamente perturbadas y presentaron bajos niveles de H_s , sin embargo, Cozumel no presenta una disminución significativa de diversidad genética a pesar de haber sufrido grandes impactos negativos en su ambiente. Asimismo, el escaso flujo génico esperado coincide con los resultados obtenidos, así como la presencia de altos niveles de endogamia y un efecto de deriva génica.

El aumento de las actividades antropogénicas juega un papel determinante en la estructura de los manglares. México ha experimentado una rápida transformación en la productividad y biodiversidad de poblaciones de *A. germinans* (Agraz-Hernández *et al.*, 2010). De acuerdo con Calderón *et al.* (2009) la pérdida de superficie de manglar para el Pacífico en 1976 fue de 31%, y para el año 2000, del 38%. Dadas estas cifras, se proyecta que en 25 años se habrá perdido alrededor del 50% de cobertura de manglar en México.

La protección de poblaciones de *A. germinans* es necesaria para la permanencia y recuperación de los manglares de México y de las especies amenazadas y endémicas asociadas a ellos. Por lo tanto, es necesario elaborar programas de manejo que incrementen la variabilidad genética y la conectividad entre poblaciones. Cabe mencionar, que las poblaciones del mar Caribe representan un reservorio de diversidad y los más altos niveles de variabilidad genética, por lo cual es necesario protegerlas. Esta investigación sugiere que debido a la acelerada tasa de destrucción de estas poblaciones

por diversos factores (en específico el crecimiento urbano), es necesario llevar a cabo reubicaciones y dispersión entre poblaciones con los niveles más bajos de variación.

Es por ello que, describir la importancia de los ecosistemas de manglar, establecer la conexión entre poblaciones, promover la dispersión de propágulos y recolonización de las áreas más afectadas, así como destacar la función de las Áreas Naturales Protegidas como instrumento de política ambiental, contribuirá a la difusión de los mecanismos de conservación, protección y aprovechamiento del recurso con base en las evidencias arrojadas por distintos trabajos de investigación.

VII. CONCLUSIONES

Sabemos que las poblaciones de *Avicennia germinans* se han visto afectadas por la fragmentación del hábitat. Por lo tanto, evaluar el posible efecto que ha tenido la fragmentación sobre las poblaciones de mangle negro es importante para su conservación y el objetivo de esta investigación.

- La variabilidad genética (H_T) de poblaciones de plántulas de *A. germinans* es alta con respecto a lo observado en las poblaciones de adultos en la investigación de Sandoval-Castro *et al.* 2014. Sin embargo, teniendo en cuenta el número de microsatélites utilizados en esta investigación, H_T es baja.
- La riqueza alélica en la costa del Océano Pacífico es menor que la obtenida en la costa del Océano Atlántico.
- La escasa conectividad entre poblaciones, la fragmentación del hábitat y la presencia de cuellos de botella, han promovido la pérdida de variabilidad genética debido al apareamiento entre individuos emparentados, como lo sugieren los valores significativos del coeficiente de endogamia.
- Las poblaciones analizadas se encontraron diferenciadas genéticamente, sobre todo entre costas.
- La distancia genética y geográfica tienen una relación directa y significativa. Por lo tanto, la distancia geográfica afecta los procesos genéticos que determinan los niveles de variabilidad genética.
- En las poblaciones de *A. germinans* se identificaron cuatro unidades genéticas; su extensión, el impacto antropogénico y su historia particular son factores exclusivos de cada área. Sin embargo, la tendencia hacia la disminución de la variabilidad, así como la presencia de endogamia y una estructuración definida entre poblaciones, sugieren que es necesario proteger estos sitios.
- Es de suma importancia implementar programas de conservación y manejo de recursos; así mismo establecer métodos para aumentar la conexión entre poblaciones y promover la dispersión de propágulos.

Estos resultados ofrecen una perspectiva significativa de la situación de *A. germinans* en el país. Por lo tanto, es necesario realizar más estudios genéticos con otros marcadores moleculares, con la finalidad de conocer la variabilidad genética de todas las poblaciones de mangle negro en el Océano Pacífico y Atlántico, y así conocer la dinámica poblacional entre ellas y disminuir el riesgo de extinción de la especie.

REFERENCIAS

- Adami, C., C. Ofria y T.C. Collier. 2000. Evolution of biological complexity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 4463-4468.
- Addinsoft, Inc. 1995-2007. XLSTAT Brochure. Microsoft Corporation. Paris, France. <http://www.xlstat.com/en/products>.
- Agraz-Hernández, C.M., C. García-Zaragoza, J. Osti-Saenz y C. Chan-Keb. 2009. Caracterización de los manglares en los estados de Campeche y Quintana Roo, México. *Jaina Boletín Informativo* 20: 5-14.
- Allen, J.A., K.C. Ewel y J. Jack. 2001. Patterns of natural and anthropogenic disturbance of the mangroves on the Pacific Island of Kosrae. *Wetlands Ecology and Management* 9: 291-301.
- Allendorf, F. W. y G. Luikart. 2008. Conservation and the genetics of populations. Blackwell Publishing. Oxford. 642 pp.
- Améndola, P.M. 2009. Estudio de la variabilidad genética en poblaciones de *Alouatta pigra* del Estado de Campeche: implicaciones para la conservación. Tesis doctoral en Ciencias Biológicas. Departamento de Ecología y Manejo de Recursos Naturales. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Arnaud-Haond, S., S. Teixeira., S.I. Massa., C. Billot., P. Saenger., G. Coupland., C.M. Duarte., y A. Serrao. 2006. Genetic structure at range edge: low diversity and high inbreeding in Southeast Asian mangrove (*Avicennia marina*) populations. *Molecular Ecology* 15: 5515-3525.
- Augsburger, C.K. y E. A. Bartlett. 2003. Differences in leaf phenology between juvenile and adult trees in a temperature deciduous forest. *Tree Physiology* 23: 51-525.
- Aung, T.T., Y. Mochida y M.M. Than. 2013. Prediction of recovery pathways of cyclone-disturbed mangroves in the mega delta of Myanmar. *Forest Ecology and Management* 293: 103-113.
- Baake, E. y H. Wagner. 2001. Mutation–selection models solved exactly with methods of statistical mechanics. *Genetical research* 78: 93-117.
- Bacón, P. R., 1993. The mangroves on the Caribbean Coast. En: L. D. Lacerda and C. D. Field (eds.). *Conservation and Sustainable Utilization of Mangrove Forest In Latin America and Africa Region*. Proceedings of Workshop Nitorol, Brasil 28-30 Mayo ISME, 22 p.

- Blanco, J.F., E.A. Estrada, L.F. Ortiz y L.E. Urrego. 2012. Ecosystem-Wide impacts of deforestation in mangroves: The Urabá Gulf (Colombian Caribbean) case study. *International Scholarly Research Network Ecology* 7: 1-14.
- Brookfield, J.F.Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology* 5: 453-455.
- Carrillo-Bastos, A., E.M. Elizalde-Rendón, N. Torrescano-Valle y G. Flores-Ortiz. 2008. Adaptación ante disturbios naturales, manglar de Puerto Morelos, Quintana Roo, México. *Foresta Veracruzana* 1: 31-38.
- Castellanos, M.G. 2009. El efecto de la fragmentación en la variabilidad genética de los perros llaneros (*Cynomys ludovicianus*) en Janos- Nuevo Casas Grandes, Chihuahua, México. Tesis de maestría en Ciencias Biológicas. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cayuela, L., B.J.M. Rey y C. Echeverría. 2006. Clearance and fragmentation of tropical montane forests in the Highlands of Chiapas, Mexico (1975-2000). *Forest Ecology and Management* 226: 208-218.
- Cerón-Souza, I., E. Rivera-Ocasio, M.S. Funk y W.O. McMillan. 2006. Development of six microsatellite loci for black mangrove (*Avicennia germinans*). *Molecular Ecology* 6: 692-694.
- Cerón-Souza, I., N. Toro-Perea y H. Cárdenas-Henao. 2006. Population genetic structure of neotropical mangrove species on the Colombian Pacific coast: *Avicennia germinans* (Avicenniaceae). *Biotropica* 2: 258-265.
- Cerón-Souza, I., E. Birmingham, W.O. McMillan y F.A. Jones. 2012. Comparative genetic structure of two mangrove species in Caribbean and Pacific estuaries of Panama. *BMC Evolutionary Biology* 12: 205.
- Céspedes M., M.V. Gutierrez, N.M. Holbrook y O.J. Rocha. 2003. Restoration of genetic diversity in the dry forest tree *Swietenia macrophylla* (Meliaceae) after pasture abandonment in Costa Rica. *Molecular Ecology* 12: 3201-3212.
- Charlesworth, D. y J.H. Willis. 2009. The genetics of inbreeding depression. *Genetics* 10: 783-796.
- Chen, K., & Rajewsky, N. 2006. Natural selection on human microRNA binding sites inferred from SNP data. *Nature Genetics* 38: 1452-1456.

- Cintrón, G. y Y. Scheaffer-Novelli. 1984. Methods for studying mangrove structure, p. 91-113. En: S.C. Snedaker y J.G. Snedaker (eds.). *The Mangrove Ecosystem: Research Methods*. UNESCO, *Monograph on Oceanographic Methodology*. 252 p
- Clarke, P.J. y P.J. Myerscough. 1993. The intertidal distribution of the grey mangrove (*Avicennia marina*) in southeastern Australia: The effects of physical conditions, interspecific competition, and predation on seedlings establishment and survival. *Australian Journal of Ecology* 18: 307- 315.
- Collevatti R.G., D. Grattapaglia y J.D. Hay. 2001. High resolution microsatellite based analysis of the mating system allows the detection of significant biparental inbreeding in *Caryocar brasiliense*, an endangered tropical tree species. *Heredity* 86: 60-67.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y el Uso de la Biodiversidad [CONABIO]. 2009. Mangle negro. Fichas de Especies Mexicanas. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F., México. Compilado por Elizabeth Torres Bahena; Revisado por Carlos Galindo Leal. Marzo 2009. Diseño: Astrid Domínguez.
- Craft, K.J. y M.V. Ashley. 2007. Landscape genetic structure of bur oak (*Quercus macrocarpa*) savannas in Illinois. *Forest Ecology and Management* 239: 13-20.
- Cruz-Romero, B., J. Téllez-López, F. Maciel-Carrillo, M.C. Navarro- Rodríguez y J.C. Morales-Hernández. 2011. Degradación y Transformación de los manglares en las zonas costeras. *ALEPH ZERO* 61: 22-25.
- De la Lanza-Espino, G. 2001. Características físicas y químicas de los mares de México. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México y Plaza-Valdez México, D.F. 149 p.
- Dodd, R.S y Z. Afzal-Rafii. 2002. Evolutionary genetics of mangroves: Continental drift to recent climate change. *Trends In Ecology* 16: 80-86.
- Dodd, R.S., R.Z. Afzal-Rafii y A. Bousquet-Mélou. 2000. Evolutionary divergence in the pan-Atlantic mangrove *Avicennia germinans*. *New Phytologist* 145: 115-125.
- Dodd, R.S., Z. Afzal-Rafii, N. Kashani y J. Budrick. 2002. Land barriers and open oceans: effects on gene diversity and population structure in *Avicennia germinans* L. (Avicenniaceae). *Molecular Ecology* 11: 1327-1338
- Doyle, J.J y J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13–15.

- Droop, A. P. y S.J. Hickinbotham. 2011. Properties of biological mutation networks and their implications for a life. *Artificial life* 17: 353-364.
- Duke, N.C., J.A.H. Benzie, J.A. Goodall y E.R. Ballment. 1998. Genetic structure and evolution of species in the mangrove genus *Avicennia* (Avicenniaceae) in the Indo-West Pacific. *Evolution* 52: 1612-1626.
- Dupanloup, I., S. Schneider y L. Excoffier. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11: 2571-2581.
- Earl, D. A. y VonHoldt, B. M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources vol. 4 (2) pp. 359-361 doi: 10.1007/s12686-011-9548-7. Core version: vA.2 July 2014. Plot version: vA.1 November 2012. Web version: v0.6.94 July 2014.
- Echols, H. 1982. Mutation rate: some biological and biochemical considerations. *Biochemistry* 64: 571-575.
- Eguiarte L.E., N. Pérez-Nasser y D. Piñero. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity* 69 :217-228.
- Ellison, M.A. y E.J. Farnsworth. 1996. Anthropogenic disturbance of Caribbean mangrove ecosystems: past impacts, present trends, and future predictions. *Biotropica* 28: 549- 565.
- Ellstrand, N.C y D.R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size. Implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 217-42.
- Escamilla, V. 2011. Estructura e importancia de los manglares en la Península de Yucatán (Campeche, Yucatán, Quintana Roo). *JAINA* 1: 55- 68.
- Evanno, G., S. Regnaut y J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.
- Excoffier, L. y H.E.L. Lischer .2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.
- Ezcurra, E., O. Aburto, L. Rosenzweig. 2009. Los riñones del mundo: ¿Por qué debemos proteger los manglares de México?. *Investigación ambiental* 1: 202- 206.

- Foroughbakhch, R.P., A.E. Céspedes, M.A. Alvarado, A. Núñez y M.H. Badii. 2004. Aspectos ecológicos de los manglares y su potencial como fitorremediadores en el Golfo de México. *Ciencia UANL* 2: 203- 208.
- Fox, C.W. y D.H. Reed. 2010. Environmental stress: an experimental study and meta-analysis. *Evolution* 65: 246-258.
- Frank, S. A. 2012. Natural selection. III. Selection versus transmission and the levels of selection. *Journal of Evolutionary Biology* 25: 227-243.
- Frankham, R. 2005. Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126: 131-140.
- García, B.S., J.M. Carol., H.P. Salvá y A.T. Mercader. 2012. Análisis de la dimensión social y económica de la relación de la comunidad de Cumbe con el manglar y los impactos de la industria camaronera. Universidad Autónoma de Barcelona. KILOMBO. 88 p.
- Giang, H.L., P.N. Hong, M.S. Tuan y K. Harada. 2003. Genetic variation of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) in Vietnam revealed by microsatellite and AFLP markers. *Genes and Genetic Systems* 78: 399-407.
- Giri, C., E. Ochieng, L.L. Tieszen, Z. Zhu, A. Singh, T. Loveland, J. Masek y N. Duke. 2011. Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. *Global Ecology and Biogeography* 20: 154-159.
- Graham, J., J. Curran y B.S. Weir. 2000. Conditional genotypic probabilities for microsatellite loci. *Genetics* 155: 1973-1980.
- Guo, H., Y. Zhang, Z. Lan y S. C. Pennings. 2013. Biotic interactions mediate the expansion of black mangrove (*Avicennia germinans*) into salt marshes under climate change. *Global Change Biology* 19: 2765- 2774.
- Gupta, M., S. Chyi, J. Romero-Severson y J.L. Owen. 1994. Amplification of DNA markers from evolutionary diverse genomes using single primers of simple sequence repeat. *Theoretical and Applied Genetics* 89: 998- 1006.
- Gupta, M., H.S. Balyan, P.C. Sharma y B. Ramesh. 1996. Microsatellites in plants: A new class of molecular markers. *Science* 1: 45-54.
- Gutiérrez, D., J.L. León-Cortés, R. Menéndez, R.J. Wilson, M.J.R. Cowley y C.D. Thomas. 2001. Metapopulations of ofur Lepidopteran herbivores on a single host plant, *Lotus cornicalatus*. *Ecology* 82: 1371-1386.

- Hamrick J.L., M.J.W. Godt y S.L. Sherman-Broyles. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plants species. *New Forests* 6: 95-124.
- Hartl, D. L. 1988. Primer of population genetics. 2 ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 305 p.
- Hartl, D. y A. G. Clark. 1997. Principles of population genetics. 3 ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 542 p.
- Hernández- Cornejo, R., N. Koedam, A. Ruíz- Luna, M. Troell y F. Fahdouh-Guebas. 2005. Remote sensing and ethnobotanical assessment of the mangrove forest changes in the Navachiste-San Ignacio-Macapule lagoon complex, Sinaloa, Mexico. *Ecology and Society* 10: 16.
- Hirales-Cota, M., J. Espinoza-Avalos, B. Schmook, A. Ruíz-Luna y R. Ramos-Reyes. 2010. Drivers of mangrove deforestation in Mahahual-Xcalak, Quintana Roo, southeast Mexico. *Ciencias Marinas* 36: 147-159.
- Holguin, G., P. Vazquez y Y. Bashan. 2001. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Biological Fertile Soils* 33: 265- 278.
- Holsinger, K. 2000. Demography and extinction in small populations. En: Young, A.G., G.M. Clarke, (eds.). *Genetics, Demography and Viability of Frangmented Populations*. Conservation Biology 4. Cambridge University Press. 293-312 pp.
- Jiménez, J. A., 1992. Mangrove forest of Pacific Coast of Central America, p. 259-267. En: U. Seeliger (ed.). *Coastal Plant Communities of Latin America*.
- Jump, A.S. y J. Peñuelas. 2006. Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 21: 8096- 8100.
- Kelly, D., J.J. Ladley, A.W. Robertson, D.A. Norton. 2000. Limited forest fragmentation improves reproduction in the declining New Zealand mistletoe *Peraxilla tetrapetala* (Loranthaceae). En: Young, A.G., G.M. Clarke (eds.). *Genetics, Demography and Viability of Frangmented Populations*. Conservation Biology 4. Cambridge University Press. 293-312 p.
- Khan, M.N.I., S. Sharma, U. Berger, N. Koedam, F. Dahdouh-Guebas y A. Hagihara. 2013. How do tree competition and stand dynamics lead to spatial patterns in monospecific mangroves?. *Biogeosciences* 10: 2803- 2814.

- Kimura, M. y T. Ohta. 1971. Theoretical aspects of population genetics. Princeton University Press. 223 p.
- Kingsolver, J.G., H.E. Hoekstra, J.M. Hoekstra, D. Berrigan, S.N. Vignieri, C.E. Hill y P. Beerli. 2001. The strength of phenotypic selection in natural populations. *The American Naturalist* 157: 245-261.
- Lacerda, L. D., J. E. Conde, C. Alarcón, R. Álvarez, P. R. Bocón, L. D'Croz, B. Kjertve, J. Polalna y M. Vannucci, 1993. Mangrove ecosystems of Latin America and the Caribbean: A summary, p. 1-42. En: L. D. Lacerda (coord.), *Conservation and Sustainable Utilization of Mangrove Forests in Latin America and Africa*. Mangrove Ecosystems Technical Reports, International Society for Mangrove Ecosystems, 2: 1-272.
- Lacy, R. C. 1987. Loss of genetic diversity from managed populations: interacting effects of drift, mutation, immigration, selection and population subdivision. *Conservation Biology* 1: 143-158.
- Levin, D.A. 1981. Dispersal versus gene flow in plants. *Annals of Missouri Botanical Garden* 68: 233-253.
- Lewis, R.R. 2005. Ecological engineering for successful management and restoration of mangrove forests. *Ecological Engineering* 24: 403-418.
- Li, M.S., L.J. Mao, W.J. Shen, S.Q. Liu y A.S. Wei. 2013. Change and fragmentation trends of Zhanjiang mangrove forests in southern China using multi-temporal Landsat imagery (1997-2010). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 130: 111-120.
- López, P.J. y E. Ezcurra. 2002. Los manglares de México: una revisión. *Madera y Bosques* 2: 27: 51.
- Lugo, A.E. 2002. Conserving Latin American and Caribbean mangroves: issues and challenges. *Madera y Bosques*. 1: 5-25.
- Maguire, T.L., P. Saenger, P.R. Baverstock y R.J. Henry. 2000. Microsatellite analysis of genetic structure in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae). *Molecular Ecology* 11: 1853-1862.
- Mallet, J. 1995. A species definition for the modern synthesis. *Trends in Ecology* 7: 294-299.
- Marone, L., F. Milesi, R.G. Del Solar, E.T. Mezquida, J. De Casenave y V. Cueto. 2002. La teoría de evolución por selección natural como premisa de la investigación ecológica. *Interciencia* 27: 137-142.

- Martínez-Ballesteros, A.J., C.M. Plaza-Rodríguez y G. Guevara. 2013. Aporte de Hojarasca del mangle negro (*Avicennia germinans* L.) en el Caribe Colombiano. *Luna Azul* 38: 218-230.
- Morales-Ojeda y Herrera-Silveira. 2010. Terrestrial and oceanic influence on spatial hydrochemistry and trophic status in subtropical marine near-shore waters. *Water Research* 44: 5949-5964.
- Moreno, R.J.A. 2013. Comparación de la cobertura y fragmentación del bosque de manglar entre un área natural protegida y área adyacente sin esquema de protección. Tesis de licenciatura en Manejo Sustentable de las zonas costeras. Yucatán, México. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mori, G.M., M.I. Zucchi, I. Sampaio, A.P. Souza. 2010. Microsatellites for the mangrove tree *Avicennia germinans* (Acanthaceae): Tools for hybridization and mating system studies. *American Journal of Botany* 97: 79-81.
- McCauley, D.E. 1991. Genetic consequences of local population extinction and recolonisation. *Trends in Ecology and Evolution*. 6: 5-8.
- Mas, J.F., S.J. Correa. 2000. Análisis de la fragmentación del paisaje en el área protegida "Los petenes", Campeche, México. *Investigaciones Geográficas*. 43: 42-59.
- Navarro-Rodríguez, M.C., J. Téllez-López, L.F. González y B. Cruz-Romero. 2010. La fragmentación del sistema estuarino de Bahía de Banderas, Jalisco-Nayarit, México. *Ciencia y Mar* 14: 35-42.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 70: 3321-3323.
- Nettel, A., F. Afzal-Rafii, R.S. Dodd. 2005. Characterization of microsatellite markers for the mangrove tree *Avicennia germinans* L. (Avicenniaceae). *Molecular Ecology* 5: 103-105.
- Nettel, A., R. Dodd, Z. Afzal-Rafii y C. Tovilla-Hernández. 2008. Genetic diversity enhanced by ancient introgression and secondary contact in East Pacific black mangroves. *Molecular Ecology* 17: 2680-2690.
- Nettel-Hernanz, A., R.S. Dodd, M. Ochoa-Zavala, C. Tovilla-Hernández y J.R., Díaz-Gallegos. 2013. Matig system analyses of tropical populations of the Black Mangrove, *Avicennia germinans* (L.) L. (Avicenniaceae). *Botanical Sciences* 91: 115-117.
- Núñez-Farfán, J., C. A. Domínguez, L. E. Eguiarte, A. Cornejo, M. Quijano, J. Vargas, R. Dirzo. 2002. Genetic divergence among Mexican populations of red mangrove (*Rhizophora mangle*): geographic and historic effects. *Evolutionary Ecology Research* 4: 1049-1064.

- Ochoa, A., J. Gasca, G. J. Ceballos, L.E. Eguiarte. 2012. Spatiotemporal population genetics of the endangered Perote ground squirrel (*Xerospermophilus perotensis*) in fragmented landscape. *Journal of Mammalogy* 93: 1061-1074.
- O'Grady, J.J., B.W. Brook, D.H. Reed, J.D. Ballou, D.W. Tonkyn y R. Frankham. 2006. Realistic levels of inbreeding depression strongly affect extinction risk in wild populations. *Biological Conservation* 133: 42- 51.
- Ohsawa T., e Y. Ide. 2008. Global patterns of genetic variation in plant species along vertical and horizontal gradients on mountains. *Global Ecology and Biogeography* 17: 152-163.
- Ohta, T. 1982. Linkage disequilibrium due to random genetic drift in finite subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 79: 1940-1944.
- Oosterhout, C. V., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills y P. Shipley. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-558.
- Osunkoya O. y R.G. Creese. 1997. Population structure, spatial pattern and seedling establishment of the grey mangrove, *Avicennia marina* var. *australasica*, in New Zealand. *Australian Journal of Botany* 45: 707-725.
- Orihuela B., D.E.; C. Tovilla H.; H.F.M. Vester y T. Álvarez L. 2004. Flujo de materia en un manglar de la costa de Chiapas, México. *Madera y Bosques* 2: 45-61.
- Parani, M., M. Lakshmi, P. Senthilkumar, N. Ram, A. Parida. 1998. Molecular phylogeny of mangroves V. Analysis of genome relationships in mangrove species using RAPD and RFLP markers. *Theoretical Applied Genetics* 97: 617-625.
- Parrent, J.L., M. Garbelotto, G.S. Gilbert. 2004. Population genetic structure of the polypore *Datronia caperata* in fragmented mangrove forests. *Mycology* 108: 403-410.
- Peacock, M.M. y A.T. Smith. 1997. The effect of habitat fragmentation on dispersal patterns, mating behavior, and genetic variation in a pika (*Ochotona princeps*) metapopulation. *Oecologia* 112: 524- 533.
- Pinto-Nolla, F., G. Naranjo-González y J. Hernández-Camacho. 1995. Influencia del hábitat en la morfometría y morfología del "mangle salado" *Avicennia germinans* (L.) L. en el litoral Caribe Colombiano. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas* 19: 481-498.

- Piotti, A. 2009. The genetic consequences of habitat fragmentation: the case of forests. *iForest* 2: 75-76.
- Piry, S., G. Luikart y J.M. Cornuet. 1999. BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity* 90: 502-503.
- Piry S, A. Alapetite, J.M. Cornuet, D. Paetkau, L. Baudouin y A. Estoup. 2004 GeneClass2: A Software for Genetic Assignment and First-Generation Migrant Detection. *Journal of Heredity* 95: 536-539.
- Pritchard, J.K., M. Stephens y P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Rabinowitz, D. 1978. Early Growth of Mangrove Seedlings in Panama, and an Hypothesis Concerning the Relationship of Dispersal and Zonation. *Journal of Biogeography* 5: 113–133.
- Rannala, B. y J.L. Mountain. 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94: 9197- 9201.
- Rodríguez-Zuñiga, M.T. 2000. Manglares de Celestún y Río Lagartos: Estructura fisonómica y evaluación de la deforestación mediante percepción remota. Yucatán, México. Tesis de licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Romero-Berny, E.I., J. Acosta-Velázquez, C. Tovilla-Hernández, B. Schmook, R. Gómez-Ortega. 2015. Land coverage changes and fragmentation of mangroves in the Soconusco region, Chiapas, Mexico, 1994-2011. *Revista Geográfica de América Central* 54: 153-169.
- Rousset, F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics* 145: 1219-1228.
- Rousset, F. 1998. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8: 103-106.
- Saakian, D. B. y C.K. Hu. 2004. Solvable biological evolution model with a parallel mutation-selection scheme. *Physical Review E* 69: 046121,1-8.
- Salas-Leiva, D.E., V.M. Mayor- Durán, N. Toro-Perea. 2009. Genetic diversity of black mangrove (*Avicennia germinans*) in natural and reforested areas of Salamanca Island Parkway, Colombian Caribbean. *Hydrobiologia* 620: 17:24.

- Salazar-Vallejo, S. 2000. Biogeografía marina del Gran Caribe. *INTERCIENCIA* 1: 7-12.
- Sandoval-Castro E, R.S. Dodd, R. Riosmena-Rodríguez, L.M. Enríquez-Paredes, C. Tovilla-Hernández. 2014. Post-Glacial expansion and population genetic divergence of mangrove species *Avicennia germinans* (L.) stearn and *Rhizophora mangle* L. along the Mexican Coast. *PLoS ONE* 9: e93358. doi:10.1371/journal.pone.0093358
- Schnabel, A., J.D. Nason y J.L. Hamrick. 1998. Understanding the population genetic structure of *Gleditsia triacanthos* L.: seed dispersal and variation in female reproductive success. *Molecular Ecology* 7: 819- 832.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393-430.
- Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. En: Real, L.A (ed.). *Ecological Genetics*. Princeton University Press. 3-18 p.
- Slatkin, M. 1999. Flujo génico en poblaciones naturales. En: Núñez-Farfán, J. y Eguiarte L. (comps). *La Evolución Biológica*. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Slatkin, M. 2008. Linkage disequilibrium- understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Genetics* 9: 477-485.
- Smardon, R. 2009. Estuaries on the Edge, Yucatan Peninsula, Mexico. En: *Sustaining the World's Wetlands*. Springer. U.S. 221-266 p.
- Sol-Sánchez, A., F. Sánchez-Gutiérrez, G.I. Hernández-Melchor, L.F. Zamora-Cornelio, O. Sardiñas-Gómez. C. Rivera, P.J. Toruño. 2015. Volumen maderable de mangle negro (*Avicennia germinans* L.) impactado por herbivoría de *Anacamptodes* sp. en Cárdenas Tabasco. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático* 1: 115-133.
- Suárez, N. y E. Medina. 2005. Salinity effect on plant growth and leaf demography of the mangrove, *Avicennia germinans* L. *Trends In Ecology* 19: 721-727.
- Tejada, A., A. Bonilla-Rivero, L.A. González, J. Velásquez y H. López-Rojas. 2013. Isolation by distance and selection in *Anolis onca* populations in northeast Aray peninsula, Sucre state, Venezuela. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente* 25: 46-56.

- Téllez-García, C.P. y J.I. Valdez-Hernández. 2012. Structural characterization of the mangrove forest in the estero Palo Verde, Cuyutlán lagoon, Colima. *Ciencias Forestales y del Ambiente* 3: 396-408.
- Tomlinson, P.B. 1986. *The Botany of Mangroves*. Cambridge University Press, Cambridge. 423 p.
- Utrera-López, M. y P. Moreno-Casasola. 2008. Mangrove litter dynamics in La Mancha Lagoon, Veracruz, Mexico. *Wetlands Ecology Manage* 16: 11-22.
- Väli, E., A. Einarsson, L. Waits y H. Ellegren. 2008. To what extent do microsatellite markers reflect genome-wide genetic diversity in natural populations? *Molecular Ecology* 17: 3808-3817.
- Valiela, I., J.L. Bowen y J.K. York. 2001. Mangrove forests: One of the World's threatened major tropical environments. *Biological Science* 51: 807- 815.
- Van Oosterhout, C., W.F. Hutchinson, D.P.M. Wills y P. Shipley. 2004. MICROCHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-538.
- Villasmil-Ontiveros, Y., R.R. Bravo, L. Yáñez-Cuéllar, G. Contreras, J. Jordana y J. Aranguren-Méndez. 2008. Genetic diversity of Limonero Creole Breed using microsatellites molecular markers. *Facultad de Ciencias Veterinarias –Universidad de Zulia* 4: 415-423.
- Watson, J., N. Geard y J. Wiles. 2004. Towards more biological mutation operators in gene regulation studies. *Biological Systems* 76: 239-248.
- Wayne, R.K. y P.A. Morin. 2004. Conservation genetics in the new molecular age. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2: 89-97.
- Weir, B.S. y C.C. Cockerman. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- White, G.M., D.H. Boshier. 2000. Fragmentation in Central American dry forests: genetic impacts on *Switenia humilis* (Meliaceae). En: Young, A.G., G.M. Clarke (eds.). *Genetics, Demography and Viability of Frangmented Populations*. Conservation Biology 4. Cambridge University Press. 293-312 p.
- Williams-Linera, G., R.H. Manson y E.I. Vera. 2002. La fragmentación del bosque mesófilo de montaña y patrones de uso del suelo en la región oeste de Xalapa, Veracruz, México. *Madera y Bosque* 8: 73-89.

- Wlasiuk, G., J.C. Garza y E.P. Lessa. 2003. Genetic and geographic differentiation in the Rio Negro tuco-tuco (*Ctenomys rionegrensis*): Inferring the roles of migration and drift from multiple genetic markers. *Evolution* 57: 913-926.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28: 114-138
- Wright, S. 1969. Evolution and the genetics of populations, vol. 2: The theory of gene frequencies. University of Chicago Press. Chicago Illinois, EUA.
- Yáñez-Arancibia A., A. L. Lara-Domínguez, G. J. Villalobos Zapata, E. Rivera y J. C. Seijo, 1993. Mangrove ecosystem of Mexico, ecological function, economic value and sustainable use, Chap. 2: 3-4. En: L. D. Lacerda and C. D. Field (eds.). *Conservation and Sustainable Utilization of Mangrove Forest in Latin America and Africa Region*. Proceedings of Workshop, Niteroi, Brasil 28-30 Mayo ISME. 22 p.
- Young, A.G., T. Boyle, A.H.D. Brown. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 413-418.
- Zaldívar-Jiménez A., J. Herrera-Silveira, C. Coronado-Molina y D. Alonzo-Parra. 2004. Estructura y productividad de los manglares de la Reserva de la Biosfera Ría Celestún. Yucatán. *Maderas y Bosques* 4: 23-35.
- Zaldívar-Jiménez, A., J. Herrera-Silveira, R. Pérez-Ceballos y C. Teutli-Hernández. 2012. Evaluation of use mangrove wetland as a biofilter of shrimp pond effluent in Yucatan, Mexico. *Biología Marina y Oceanografía* 3: 395- 405.
- Zhou, R., S. Ling, W. Zhao, N. Osada, S. Chen, M. Zhang, Z. He, H. Bao, C. Zhong, B. Zhang, X. Lu, D. Turissini, N.C. Duke, J. Lu, S. Shi y C.I. Wu. 2011. Population genetics in nonmodel organisms: II. Natural selection in marginal habitats revealed by deep sequencing on dual platforms. *Molecular Biology Evolution* 1-10.

ANEXOS

Anexo 1.

Método de extracción de ADN con la solución CTAB

- I. Moler aproximadamente 1 g de tejido foliar en TissueLyser II- QIAGEN hasta obtener un polvo fino, eliminando el máximo de fibras.
- II. Agregar 1 mL de buffer CTAB 2X. Moler y pasar todo a un tubo Eppendorf de 2.0 mL.
- III. Incubar en baño maría a 60°C durante 1 hora.
- IV. Centrifugar a 10,000 rpm por 8 minutos y trasladar el sobrenadante a un tubo nuevo.
- V. Añadir a cada tubo 500 µL de cloroformo:octanol 24:1, agitar hasta homogeneizar y centrifugar a 7000 rpm durante 12 minutos a 4°C.
- VI. Trasladar 500 µL del sobrenadante a un tubo nuevo. Este paso es fundamental para obtener un ADN limpio.
- VII. Precipitar el ADN con 500 µL de isopropanol frío y dejar reposar 24 horas a -20°C.
- VIII. Centrifugar a 9000 rpm durante 5 minutos a 4°C y eliminar el sobrenadante.
- IX. Limpiar el pellet agregando 1 mL de Etanol al 70% frío y centrifugar a 7000 rpm durante 5 minutos a 4°C.
- X. Eliminar el sobrenadante y dejar secar la muestra.
- XI. Resuspender la pastilla con 100 µL de agua.

Anexo 2

Loci utilizados en las ocho poblaciones de *A. germinans*. Heterocigosidad esperada (H_E), heterocigosidad observada (H_O), riqueza alélica (A), porcentaje de loci polimórficos (P), coeficiente de endogamia (F_{IS}).

	CA	BN	EN	HB	SK	RL	CZ	TX	F_{IS} por locus
N	30	30	30	30	30	30	30	30	
Agerm_CT_003									
H_E	0.207	0.787	0.783	0.91	0.749	0.946	0.918	0.819	
H_O	0.074	0.733	0.892	0.483	0.103	0.925	0.392	0.8	0.288
A	4	6	6	14	6	21	19	12	
F_{IS}	0.276	0.321	0.348	0.25	0.33	0.33	0.33	0.238	
Agerm_CAT_004									
H_E	0.466	0.829	0.909	0.896	0.846	0.914	0.857	0.895	
H_O	0.259	0.666	0.642	0.258	0.413	0.851	0.285	0.333	0.451
A	6	12	15	15	9	15	13	18	
F_{IS}	0.451	0.489	0.475	0.405	0.441	0.421	0.505	0.419	
AgD37									
H_E	0.731	0.761	0.853	0.314	0.892	0.916	0.257	0.914	
H_O	0.925	0.866	0.928	0.129	0.689	0.888	0.00	0.633	0.11
A	5	10	8	5	12	14	3	20	
F_{IS}	0.163	0.152	0.145	0.079	0.087	0.069	0.124	0.068	
Agerm_CT_004									
H_E	0.631	0.578	0.469	0.89	0.915	0.645	0.757	0.904	
H_O	0.222	0.133	0.142	0.225	0.275	0.592	0.321	0.3	0.632
A	8	9	5	15	15	8	9	16	
F_{IS}	0.628	0.614	0.625	0.607	0.617	0.638	0.69	0.638	
Agerm_GA_003									
H_E	0.696	0.757	0.624	0.839	0.816	0.648	0.888	0.909	
H_O	0.777	0.733	0.607	0.967	0.793	0.814	0.964	0.733	0.034
A	7	8	7	14	11	8	14	17	
F_{IS}	*-0.024	*-0.044	*-0.041	*-0.013	*-0.044	*-0.076	*-0.007	*-0.025	
Agerm_GT_006									
H_E	0.468	0.837	0.386	0.728	0.844	0.542	0.761	0.95	
H_O	0.148	0.833	0.178	0.516	0.551	0.518	0.357	0.5	0.349
A	5	10	3	10	9	6	7	24	
F_{IS}	0.32	0.413	0.335	0.358	0.349	0.321	0.378	0.32	
Agerm_25									
H_E	0.33	0.646	0.74	0.063	0.224	0.208	Monomórfico	0.033	
H_O	0.222	0.1	0.00	0.00	0.034	0.222		0.033	0.652
A	4	11	5	2	4	4	1	2	
F_{IS}	0.818	0.707	0.627	0.742	0.739	0.762	0.814	0.75	
Agerm_8									
H_E	0.474	0.752	Monomórfico	0.063	0.193	0.208	0.287	0.066	
H_O	0.333	0.266		0.00	0.00	0.222	0.071	0.666	0.556
A	9	11	1	2	3	4	3	3	
F_{IS}	0.625	0.492	0.554	0.573	0.505	0.573	0.608	0.521	
AgT31									
H_E	0.403	0.517	0.602	0.715	0.597	0.598	0.742	0.551	
H_O	0.037	0.333	0.321	0.193	0.206	0.555	0.142	0.3	0.359
A	4	7	10	7	8	7	8	7	

F_{IS}	0.539	0.329	0.331	0.297	0.326	0.376	0.368	0.308	
Agerm_CA_001									
H_E	0.67	0.661	0.852	0.879	0.812	0.895	0.935	0.831	
H_O	0.111	0.466	0.607	0.451	0.551	0.888	0.535	0.833	0.43
A	5	8	11	13	13	14	20	12	
F_{IS}	0.346	0.443	0.425	0.415	0.501	0.462	0.430	0.423	
AgT1									
H_E	0.684	0.377	0.723	0.601	0.8	0.037	0.733	0.667	
H_O	0.037	0.266	0.392	0.29	0.724	0.037	0.392	0.5	0.32
A	5	5	6	8	7	2	7	9	
F_{IS}	0.283	0.274	0.321	0.36	0.328	0.321	0.419	0.254	
AgD6									
H_E	0.673	0.494	Monomórfico	0.241	0.48	0.535	0.498	Monomórfico	
H_O	0.37	0.233		0.258	0.344	0.629	0.178		0.32
A	10	8	1	7	8	6	5	1	
F_{IS}	0.283	0.274	0.321	0.36	0.328	0.321	0.419	0.25426	
AgT9									
H_E	0.419	0.599	Monomórfico	0.508	0.508	0.535	0.739	0.12825	
H_O	0.296	0.9		0.00	1.00	0.37	0.5	0.13333	0.25
A	9	4	1	2	2	6	5	3	
F_{IS}	*-0.322	*-0.191	*-0.25	*-0.108	*-0.119	*-0.258	*-0.347	*-0.40708	
AgT4									
H_E	0.39	0.219	0.646	0.776	0.661	Monomórfico	0.729	0.78814	
H_O	0.407	0.2	0.071	0.516	0.551		0.642	0.66667	0.277
A	8	5	3	7	5	1	8	9	
F_{IS}	0.307	0.288	0.17	0.262	0.297	0.306	0.277	0.30894	
AgT8									
H_E	0.622	0.272	0.646	0.543	0.651	0.844	0.774	0.64350	
H_O	0.481	0.066	0.75	0.516	0.103	0.851	0.535	0.63333	0.205
A	4	4	4	4	4	10	8	6	
F_{IS}	0.216	0.185	0.274	0.24	0.12	0.25	0.26	0.20132	
Agerm_CTT_001									
H_E	0.396	0.524	0.666	0.769	0.673	0.758	0.781	0.68983	
H_O	0.296	0.733	0.678	0.645	0.862	0.925	0.857	0.93333	0.131
A	10	4	6	11	9	10	8	9	
F_{IS}	*-0.161	*-0.099	*-0.147	*-0.188	*-0.108	*-0.095	*-0.116	*-0.13747	
Agerm_CA_002									
H_E	0.75	0.625	0.639	0.643	0.750	0.452	0.665	0.60056	
H_O	0.925	0.933	0.892	0.741	0.586	0.481	0.53535	0.33333	0.059
A	11	4	3	4	7	4	5	5	
F_{IS}	*-0.028	*0.007	*-0.009	*-0.042	*-0.106	*-0.129	*-0.057	*-0.094	
Agerm_GT_003									
H_E	0.643	0.22	0.623	0.438	0.617	0.814	0.842	0.434	
H_O	0.444	0.133	0.678	0.322	0.482	0.851	0.428	0.333	0.214
A	9	6	7	7	9	9	15	9	
F_{IS}	0.199	0.205	0.261	0.208	0.213	0.212	0.264	0.152	
P	1.00	1.00	0.833	0.888	1.00	0.888	0.944	0.833	
F_{IS} por población	0.39	0.37	0.372	0.369	0.361	0.383	0.42	0.347	

Anexo 3

Estimación de máxima verosimilitud de la frecuencia de alelos nulos para los dieciocho microsatélites y ocho poblaciones de *A. germinans*

Locus	CA	BN	EN	HB	SK	RL	CZ	TX	Promedio locus
Agerm_CT_003	0.008	0.044	0.104	0.039	0.148	0.049	0.030	0.214	0.0795
Agerm_CAT_004	0.112	0.018	0.111	0.184	0.134	0.145	0.091	0.029	0.1030
AgD37	0.193	0.061	0.294	0.134	0.194	0.121	0.158	0.124	0.1598
Agerm_CT_004	0.092	0.053	0.157	0.293	0.227	0.068	0.245	0.074	0.1511
Agerm_GA_003	0.035	0.000	0.042	0.000	0.004	0.045	0.000	0.020	0.0182
Agerm_GT_006	0.240	0.027	0.014	0.032	0.213	0.077	0.236	0.118	0.1196
Agerm_25	0.240	0.193	0.034	0.093	0.119	0.053	0.090	0.006	0.1035
Agerm_8	0.020	0.033	0.003	0.098	0.016	0.000	0.153	0.213	0.0670
AgT31	0.162	0.159	0.102	0.002	0.163	0.025	0.121	0.000	0.0917
Agerm_CA_001	0.113	0.067	0.034	0.063	0.027	0.163	0.193	0.053	0.0891
AgT1	0.193	0.050	0.116	0.244	0.025	0.046	0.018	0.052	0.0930
AgD6	0.202	0.028	0.181	0.213	0.029	0.109	0.080	0.117	0.1198
AgT9	0.161	0.003	0.043	0.004	0.044	0.057	0.057	0.003	0.0465
AgT4	0.082	0.041	0.000	0.094	0.000	0.058	0.000	0.054	0.0411
AgT8	0.148	0.078	0.050	0.044	0.000	0.061	0.073	0.017	0.0506
Agerm_CTT_001	0.003	0.012	0.006	0.028	0.016	0.001	0.005	0.030	0.0126
Agerm_CA_002	0.029	0.043	0.194	0.139	0.003	0.081	0.012	0.031	0.0665
Agerm_GT_003	0.083	0.094	0.089	0.034	0.104	0.003	0.038	0.094	0.0673
Promedio población	0.1175	0.0557	0.0874	0.0965	0.0814	0.0645	0.0852	0.0693	

Anexo 4

Estimación de cuellos de botella de acuerdo al modelo de mutación en dos fases (TPM) y paso a paso (SMM).

Población	n	k_o	H_E	TPM			SMM		
				H_{eq}	d.e	p	H_{eq}	d.e	p
CA	60	6.94	0.536	0.503	0.086	0.107	0.452	0.06	0.093
BN	60	7.33	0.581	0.508	0.085	0.18	0.557	0.058	0.955
EN	60	5.67	0.564	0.55	0.081	0.163	0.492	0.059	0.135
HB	60	8.17	0.601	0.574	0.075	0.202	0.511	0.066	0.139
SK	60	7.83	0.668	0.637	0.139	0.161	0.648	0.059	0.198
RL	60	7.33	0.569	0.526	0.101	0.187	0.564	0.054	0.157
CZ	60	8.78	0.676	0.598	0.07	0.272	0.637	0.05	0.118
TX	60	10.11	0.601	0.6	0.066	0.167	0.544	0.049	0.058

$n = 2N$; k_o = número de alelos; H_E = heterocigosidad esperada; H_{eq} = Heterocigosidad en equilibrio mutación-derivación; $d.e$ = desviación estándar; p = valor de significancia ($p < 0.05$).

Anexo 5

Valores de p resultado de la prueba de desequilibrio de ligamiento entre los pares de loci analizados en las poblaciones de *A. germinans* en las costas de México. Se muestran en negritas y * el valor de p correspondiente a los pares de loci que se encuentran en desequilibrio de ligamiento.

Locus 1	Locus 2	CA	BN	EN	HB	SK	RL	CZ	TX
Agerm_CT_003	Agerm_CAT_004	0.006*	0.000	0.047*	0.269	0.003*	0.201	0.953	0.079
Agerm_CT_003	AgD37	0.125	0.938	0.073	0.863	0.470	0.258	0.303	0.424
Agerm_CT_003	Agerm_CT_004	0.757	0.116	0.577	0.047*	0.021*	0.927	0.676	0.045*
Agerm_CT_003	Agerm_GA_003	0.361	0.436	0.119	0.537	0.943	0.089	0.387	0.795
Agerm_CT_003	Agerm_GT_006	0.872	0.982	0.012*	0.275	0.956	0.917	0.575	0.837
Agerm_CT_003	Agerm_25	0.020*	0.516	0.585	0.619	0.186	0.024*	0.000	1.000
Agerm_CT_003	Agerm_8	1.000	0.761	0.000	1.000	0.409	0.057	0.966	0.716
Agerm_CT_003	AgT31	0.663	0.652	0.821	0.664	0.222	0.448	0.552	0.897
Agerm_CT_003	Agerm_CA_001	0.724	0.487	0.929	0.929	0.561	0.292	0.426	0.328
Agerm_CT_003	AgT1	0.721	0.023*	0.367	0.554	0.266	0.000	0.655	0.576
Agerm_CT_003	AgD6	0.684	0.298	0.000	0.811	0.480	0.140	0.027*	0.000
Agerm_CT_003	AgT9	0.400	0.518	0.000	1.000	1.000	0.038*	0.072	0.014*
Agerm_CT_003	AgT4	0.630	0.117	0.706	0.471	0.911	0.000	0.949	0.894
Agerm_CT_003	AgT8	0.872	0.760	0.889	0.340	0.699	0.373	0.560	0.682
Agerm_CT_003	Agerm_CTT_001	0.065	0.455	0.010*	0.936	0.496	0.949	0.007*	0.838
Agerm_CT_003	Agerm_CA_002	0.599	0.506	0.533	0.478	0.327	0.449	0.380	0.720
Agerm_CT_003	Agerm_GT_003	0.214	0.227	0.552	0.083	0.839	0.712	0.617	0.939
Agerm_CAT_004	AgD37	0.196	0.226	0.070	0.973	0.153	0.000	0.584	0.079
Agerm_CAT_004	Agerm_CT_004	0.799	0.002*	0.171	0.142	0.618	0.176	0.465	0.172
Agerm_CAT_004	Agerm_GA_003	0.929	0.082	0.671	0.503	0.813	0.981	0.074	0.405
Agerm_CAT_004	Agerm_GT_006	0.225	0.438	0.176	0.282	0.529	0.288	0.353	0.967
Agerm_CAT_004	Agerm_25	0.583	0.534	0.107	0.640	0.525	0.002*	0.000	0.932
Agerm_CAT_004	Agerm_8	0.212	0.704	0.000	0.454	0.441	0.004*	0.638	0.666
Agerm_CAT_004	AgT31	0.193	0.262	0.045*	0.394	0.730	0.302	0.490	0.258
Agerm_CAT_004	Agerm_CA_001	0.793	0.002*	0.220	0.048	0.506	0.453	0.768	0.378

Agerm_CAT_004	AgT1	0.489	0.082	0.418	0.496	0.235	0.000	0.145	0.006*
Agerm_CAT_004	AgD6	0.799	0.438	0.000	0.901	0.009*	0.450	0.473	0.000
Agerm_CAT_004	AgT9	0.396	0.420	0.000	1.000	1.000	0.004*	0.319	0.224
Agerm_CAT_004	AgT4	0.286	0.651	0.833	0.759	0.171	0.000	0.275	0.974
Agerm_CAT_004	AgT8	0.823	0.580	0.768	0.043*	0.463	0.063	0.229	0.975
Agerm_CAT_004	Agerm_CTT_001	0.061	0.717	0.359	0.077	0.772	0.207	0.847	0.576
Agerm_CAT_004	Agerm_CA_002	0.479	0.599	0.979	0.548	0.180	0.063	0.152	0.569
Agerm_CAT_004	Agerm_GT_003	0.088	0.660	0.538	0.966	0.988	0.365	0.152	0.947
AgD37	Agerm_CT_004	0.301	0.104	0.420	0.708	0.610	0.104	0.694	0.431
AgD37	Agerm_GA_003	0.272	0.027*	0.154	0.721	0.981	0.197	0.361	0.443
AgD37	Agerm_GT_006	0.203	0.154	0.474	0.671	0.886	0.168	0.478	0.405
AgD37	Agerm_25	0.995	0.385	0.056	1.000	0.188	0.022*	0.000	0.649
AgD37	Agerm_8	0.381	0.446	0.000	1.000	0.801	0.400	0.438	0.082
AgD37	Agerm_CA_001	0.245	0.297	0.124	0.057	0.594	0.095	0.636	0.362
AgD37	AgT1	0.670	0.952	0.451	0.429	0.466	0.229	0.307	0.153
AgD37	AgD6	0.643	0.699	0.266	0.556	0.765	0.000	0.876	0.162
AgD37	AgT9	0.731	0.166	0.000	0.309	0.110	0.502	0.829	0.000
AgD37	AgT4	0.799	0.332	0.000	1.000	1.000	0.019*	0.589	0.310
AgD37	AgT8	0.763	0.841	0.234	0.114	0.943	0.000	0.696	0.863
AgD37	Agerm_CTT_001	0.179	0.791	0.631	0.746	0.542	0.002*	0.737	0.221
AgD37	Agerm_CA_002	0.193	0.710	0.044*	0.853	0.865	0.097	0.068	0.589
AgD37	Agerm_GT_003	0.313	0.897	0.648	0.109	0.321	0.375	0.405	0.067
Agerm_CT_004	Agerm_GA_006	0.308	0.740	0.225	0.528	0.182	0.479	0.365	0.704
Agerm_CT_004	Agerm_25	0.005*	0.000	0.573	0.045*	0.000	0.045*	0.020*	0.242
Agerm_CT_004	Agerm_8	0.392	0.000	0.007*	0.074	0.000	0.107	0.001*	0.309
Agerm_CT_004	AgT31	0.186	0.674	0.538	0.970	0.127	0.023*	0.000	0.214
Agerm_CT_004	Agerm_CA_001	0.982	0.452	0.000	0.671	0.350	0.859	0.581	0.080
Agerm_CT_004	AgT1	0.742	0.337	0.252	0.267	0.455	0.179	0.302	0.337
Agerm_CT_004	AgD6	0.460	0.511	0.412	0.808	0.124	0.070	0.441	0.366
Agerm_CT_004	AgT9	0.079	0.153	0.280	0.718	0.056	0.000	0.486	0.428
Agerm_CT_004	AgT4	0.934	0.347	0.000	0.934	0.769	0.054	0.999	0.000
Agerm_CT_004	AgT8	0.420	0.227	0.000	1.000	1.000	0.025*	0.975	0.202

Agerm_CT_004	Agerm_CTT_001	0.715	0.343	0.970	0.603	0.775	0.000	0.349	0.809
Agerm_CT_004	Agerm_CA_002	0.152	0.917	0.945	0.269	0.566	0.074	0.965	0.708
Agerm_CT_004	Agerm_GT_003	0.725	0.331	0.927	0.220	0.759	0.384	0.630	0.272
Agerm_GA_003	Agerm_GT_006	0.576	0.416	0.409	0.281	0.935	0.185	0.684	0.897
Agerm_GA_003	Agerm_25	0.843	0.799	0.862	0.213	0.346	0.560	0.963	0.827
Agerm_GA_003	Agerm_8	0.259	0.000	0.051	0.430	0.000	0.824	0.040*	0.117
Agerm_GA_003	AgT31	0.202	0.395	0.332	1.000	0.916	0.519	0.000	0.271
Agerm_GA_003	Agerm_CA_001	0.980	0.198	0.000	0.643	0.689	0.313	0.724	0.016*
Agerm_GA_003	AgT1	0.690	0.697	0.748	0.763	0.764	0.322	0.589	0.285
Agerm_GA_003	AgD6	0.321	0.537	0.471	0.684	0.279	0.824	0.738	0.827
Agerm_GA_003	AgT9	0.061	0.757	0.677	0.497	0.516	0.000	0.524	0.194
Agerm_GA_003	AgT4	0.000	0.220	0.000	1.000	0.456	0.224	0.679	0.000
Agerm_GA_003	AgT8	0.222	0.903	0.000	1.000	1.000	0.373	0.610	0.875
Agerm_GA_003	Agerm_CTT_001	0.617	0.125	0.874	0.948	0.118	0.000	0.724	0.279
Agerm_GA_003	Agerm_CA_002	0.725	0.243	0.915	0.344	0.311	0.493	0.416	0.317
Agerm_GA_003	Agerm_GT_003	0.346	0.485	0.244	0.194	0.424	0.786	0.364	0.008*
Agerm_GT_006	Agerm_25	0.440	0.858	0.069	0.252	0.882	0.702	0.855	0.919
Agerm_GT_006	Agerm_8	0.947	0.773	0.614	0.410	0.425	0.897	0.394	0.287
Agerm_GT_006	AgT31	0.856	0.626	0.488	1.000	0.524	0.467	0.000	0.229
Agerm_GT_006	Agerm_CA_001	0.556	0.021*	0.000	0.434	0.816	0.464	0.858	0.062
Agerm_GT_006	AgT1	0.768	0.528	0.739	0.809	0.344	0.950	0.689	0.167
Agerm_GT_006	AgD6	0.705	0.534	0.103	0.740	0.524	0.019*	0.568	0.279
Agerm_GT_006	AgT9	0.625	0.891	0.161	0.424	0.040*	0.000	0.653	0.555
Agerm_GT_006	AgT4	0.595	0.370	0.000	0.496	0.729	0.140	0.855	0.000
Agerm_GT_006	AgT8	0.328	0.585	0.000	1.000	1.000	0.049*	0.571	0.817
Agerm_GT_006	Agerm_CTT_001	0.099	0.406	0.024*	0.754	0.549	0.000	0.150	0.373
Agerm_GT_006	Agerm_CA_002	0.003*	0.850	0.617	0.367	0.371	0.001*	0.814	0.926
Agerm_GT_006	Agerm_GT_003	0.559	0.135	0.366	0.115	0.790	0.180	0.260	0.008*
Agerm_25	Agerm_8	0.266	0.638	0.401	0.598	0.624	0.043*	0.501	0.262
Agerm_25	AgT31	0.057	0.603	0.407	0.341	0.126	0.177	0.851	0.946
Agerm_25	Agerm_CA_001	0.271	0.118	0.000	1.0000	1.000	1.000	0.000	1.000
Agerm_25	AgT1	0.868	0.812	0.836	0.889	0.590	0.231	0.000	1.000

Agerm_25	AgD6	0.058	0.507	0.316	0.863	0.738	0.065	0.000	0.544
Agerm_25	AgT9	0.095	0.891	0.043*	0.132	0.845	0.000	0.000	1.000
Agerm_25	AgT4	0.218	0.018*	0.000	0.069	0.705	0.851	0.000	0.000
Agerm_25	AgT8	0.142	0.909	0.000	1.000	1.000	0.014*	0.000	1.000
Agerm_25	Agerm_CTT_001	0.829	0.731	0.617	0.236	0.666	0.000	0.000	1.000
Agerm_25	Agerm_CA_002	0.912	0.401	0.930	1.000	0.986	0.119	0.000	1.000
Agerm_25	Agerm_GT_003	0.147	0.017*	0.825	0.067	0.630	0.844	0.000	0.364
Agerm_8	AgT31	0.590	0.676	0.485	1.000	0.541	0.271	0.000	0.189
Agerm_8	Agerm_CA_001	0.811	0.578	0.278	1.000	0.063	0.047*	0.000	0.366
Agerm_8	AgT1	0.030*	0.850	0.617	0.367	0.371	0.001*	0.814	0.001*
Agerm_8	AgD6	0.559	0.135	0.366	0.115	0.790	0.180	0.260	0.180
Agerm_8	AgT9	0.266	0.638	0.401	0.598	0.624	0.043*	0.501	0.430
Agerm_8	AgT4	0.057	0.118	0.407	0.341	0.126	0.177	0.851	0.177
Agerm_8	AgT8	0.271	0.812	0.000	1.000	1.000	1.000	0.000	1.000
Agerm_8	Agerm_CTT_001	0.058	0.507	0.836	0.889	0.590	0.231	0.000	0.231
Agerm_8	Agerm_CA_002	0.095	0.891	0.316	0.863	0.730	0.065	0.000	0.065
Agerm_8	Agerm_GT_003	0.218	0.018*	0.043*	0.132	0.845	0.000	0.000	0.000
AgT31	Agerm_CA_001	0.142	0.909	0.000	0.069	0.705	0.851	0.000	0.851
AgT31	AgT1	0.829	0.731	0.000	1.000	1.000	0.014*	0.000	0.014*
AgT31	AgD6	0.912	0.401	0.617	0.236	0.666	0.000	0.000	0.000
AgT31	AgT9	0.147	0.017*	0.930	1.000	0.986	0.119	0.000	0.119
AgT31	AgT4	0.590	0.676	0.825	0.067	0.630	0.844	0.000	0.844
AgT31	AgT8	0.811	0.578	0.485	1.000	0.541	0.271	0.042*	0.271
AgT31	Agerm_CTT_001	0.003*	0.278	0.578	1.000	0.063	0.047*	0.599	0.047*
AgT31	Agerm_CA_002	0.795	0.614	0.000	0.883	0.043*	0.470	0.042*	0.368
AgT31	Agerm_GT_003	0.455	0.150	0.000	0.865	0.172	0.766	0.584	0.599
Agerm_CA_001	AgT1	0.238	0.913	0.000	1.000	0.483	0.000	0.392	0.475
Agerm_CA_001	AgD6	0.254	0.583	0.000	1.000	0.088	0.430	0.802	0.000
Agerm_CA_001	AgT9	0.430	0.747	0.000	1.000	1.000	0.256	0.583	1.000
Agerm_CA_001	AgT4	0.704	0.708	0.000	0.972	0.004*	0.000	0.876	0.482
Agerm_CA_001	AgT8	0.802	0.676	0.000	0.561	0.703	0.812	0.225	0.072
Agerm_CA_001	Agerm_CTT_001	0.026*	0.414	0.000	0.316	0.058	0.683	0.661	0.086

Agerm_CA_001	Agerm_CA_002	0.581	0.779	0.000	0.527	0.698	0.272	0.732	0.988
Agerm_CA_001	Agerm_GT_003	0.070	0.216	0.000	0.070	0.936	0.643	0.917	0.310
AgT1	AgD6	0.513	0.324	0.234	0.051	0.463	0.417	0.021*	0.187
AgT1	AgT9	0.340	0.737	0.824	0.482	0.254	0.000	0.722	0.099
AgT1	AgT4	0.302	0.358	0.000	0.704	0.231	0.744	0.082	0.000
AgT1	AgT8	0.216	0.364	0.000	1.000	1.000	0.400	0.722	0.642
AgT1	Agerm_CTT_001	0.031*	0.172	0.746	0.803	0.094	0.000	0.806	0.042*
AgT1	Agerm_CA_002	0.498	0.260	0.476	0.800	0.858	0.549	0.788	0.649
AgT1	Agerm_GT_003	0.092	0.705	0.110	0.663	0.071	0.081	0.562	0.102
AgD6	AgT9	0.249	0.687	0.937	0.112	0.342	0.974	0.735	0.122
AgD6	AgT4	0.078	0.975	0.496	0.771	0.624	0.009*	0.984	0.902
AgD6	AgT8	0.114	0.738	0.967	0.106	0.388	0.000	0.605	0.009*
AgD6	Agerm_CTT_001	0.550	0.808	0.000	0.609	0.711	0.787	0.052	0.268
AgD6	Agerm_CA_002	0.323	0.311	0.000	1.000	1.000	0.017*	0.264	0.876
AgD6	Agerm_GT_003	0.405	0.001*	0.656	0.884	0.354	0.000	0.038*	0.507
AgT9	AgT4	0.774	0.515	0.753	0.680	0.471	0.038*	0.569	0.773
AgT9	AgT8	0.649	0.903	0.490	0.335	0.562	0.225	0.059	0.004*
AgT9	Agerm_CTT_001	0.686	0.675	0.334	0.691	0.458	0.863	0.971	0.955
AgT9	Agerm_CA_002	0.486	0.658	0.506	0.589	0.528	0.331	0.469	0.000
AgT9	Agerm_GT_003	0.420	0.689	0.000	0.272	0.576	0.000	0.462	0.479
AgT4	AgT8	0.425	0.848	0.000	1.000	1.000	0.000	0.496	0.000
AgT4	Agerm_CTT_001	0.196	0.753	0.500	0.605	0.000	0.232	0.477	0.605
AgT4	Agerm_CA_002	0.311	0.587	0.185	0.879	0.000	0.120	0.768	0.879
AgT4	Agerm_GT_003	0.005*	0.262	0.191	0.145	0.000	0.368	0.422	0.145
AgT8	Agerm_CTT_001	0.256	0.400	0.290	0.175	0.000	0.011*	0.046*	0.175
AgT8	Agerm_CA_002	0.207	0.485	0.453	0.291	0.064	0.188	0.962	0.291
AgT8	Agerm_GT_003	0.234	0.404	0.000	1.000	0.000	0.090	0.000	1.000
Agerm_CTT_001	Agerm_CA_002	0.192	0.518	0.000	0.195	0.103	0.602	0.927	0.195
Agerm_CTT_001	Agerm_GT_003	0.702	0.387	0.000	0.951	0.616	0.999	0.533	0.951
Agerm_CA_002	Agerm_GT_003	0.329	0.154	0.000	0.271	0.002*	0.093	0.547	0.271

Anexo 6

Matriz de distancias genéticas de Nei entre poblaciones de *A. germinans*.

	CA	BN	EN	HB	SK	RL	CZ	TX
CA	0.000							
BN	0.500	0.000						
EN	0.691	0.451	0.000					
HB	0.788	0.705	0.678	0.000				
SK	0.823	0.794	0.741	0.244	0.000			
RL	0.852	0.746	0.765	0.519	0.547	0.000		
CZ	0.743	0.711	0.761	0.425	0.415	0.362	0.000	
TX	0.707	0.662	0.639	0.397	0.364	0.420	0.390	0.000