



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Facultad de Estudios Superiores
IZTACALA

**GENÉTICA DE LA CONSERVACIÓN DEL AJOLOTE
ARROYERO DE MONTAÑA (*Ambystoma altamirani*, DUGÈS,
1895, CAUDATA: AMBYSTOMATIDAE) DE LA ZONA
PONIENTE DE LA CIUDAD DE MÉXICO.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGO**

PRESENTA

JOSÉ AUDEL LÓPEZ MEDINA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. FRANCISCO ALBERTO RIVERA ORTÍZ

LOS REYES IXTACALA, TLALNEPLANTLA DE BAZ EDO. DE MÉXICO,

2023





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mi familia, por estar ahí conmigo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México el apoyo otorgado al proyecto “Estudios para la conservación de la biodiversidad en la Ciudad de México: ajolote de arroyo de montaña (*Ambystoma altamirani*) como especie sombrilla para la protección de los ecosistemas y los beneficios que proveen”, a través del convenio SECTEI/209/2021.

Al proyecto PAPIIT DGAPA con la clave IA207821 por la utilización de cómputo y software especializado.

Al Laboratorio de Ecología Molecular y Evolución (LEME), Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO), FES Iztacala, UNAM.

Al Dr. José Antonio Ocampo Cervantes y también al Biólogo Rafael Alejandro Calzada Arciniega por permitirme integrarme a este proyecto.

Al Dr. Francisco Alberto Rivera Ortíz por su paciencia, tiempo y guianza, gracias por compartir conmigo parte de su conocimiento, experiencia, y por creer en mí, gracias por permitirme conocer nuevos aspectos de las Biología, la Ecología y las ciencias de la vida.

Igualmente agradezco a mi comité tutorial, los doctores Oscar Salomón Sanabria Urbán, Víctor Hugo Jiménez Arcos, Fabiola Soto Trejo, y Tania Garrido Garduño.

Agradezco a la Universidad por ser mi casa de estudios por una parte importante de mi vida y a todos los compañeros, amigos y profesores que me acompañaron de camino en ella. A mis amigos de carrera: Yunuen, Nichdaly, Elizabeth, Diana, Miguel, Octavio, quienes no me dejaron recorrer solo el camino de la licenciatura pese a ser como soy.

A mis más recientes amigos, MVZ Enrique, Arianna, Paola, Eddy, Brenda, Roberto, y Brenda, a pesar del breve y reciente tiempo en que nos conocimos, su amistad ha sido muy significativa para mí, he aprendido mucho de ustedes y gracias a ustedes.

A mi familia, por su inmerecido apoyo y estar siempre ahí conmigo: mis padres María del Pilar Medina Salazar, Audel López Castro; mis abuelos Juana María Salazar Ramírez, José Medina Contreras, mi tía Irma Laura Medina Salazar y mis hermanos Andrés Alejandro López Medina, y Axel Omar López Medina.

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	2
AGRADECIMIENTOS	3
CONTENIDO	4
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	6
RESUMEN.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. Los anfibios y su estado de conservación	9
1.2. Genética de la Conservación	12
1.2.1. Estrategias de conservación basadas en el conocimiento genético poblacional	17
1.3. Modelo de estudio.....	19
1.3.1 Los anfibios en genética poblacional	19
1.3.2 El Ajolote.....	20
1.3.2.1 Clasificación taxonómica de los ajolotes.....	21
1.3.2.2 Descripción morfológica de <i>Ambystoma altamirani</i>	22
1.3.2.3 Distribución	23
1.3.2.4 Hábitat.....	25
1.3.2.5 Alimentación.....	26
1.3.2.6 Ciclo de vida y reproducción	26
1.3.2.7 Antecedentes en ecología y demografía	27
1.3.2.8 Antecedentes en genética	29
1.3.3 Problemática	31
1.4 Justificación	34
1.5 Preguntas de investigación e Hipótesis.....	35
1.5.1 Preguntas de investigación	35
1.5.2 Hipótesis	35
1.6 Objetivos	36
1.6.1 Objetivo general	36
1.6.2 Objetivos particulares	36
2 MATERIALES Y MÉTODOS	37
2.1 Área de estudio	37

2.2	Trabajo de Campo y laboratorio	38
2.3	Diversidad genética	40
2.4	Cuello de Botella	41
2.5	Estructura genética	42
2.6	Barreras al Flujo Génico	44
3	RESULTADOS	46
3.1	Diversidad genética	47
3.2	Cuello de Botella	48
3.3	Estructura genética	49
3.4	Barreras al Flujo Génico e identificación patrones ecológicos	51
4	DISCUSIONES	54
4.1	Diversidad, Cuello de Botella y Tamaño Efectivo Poblacional	54
4.2	Estructura, Flujo genético y Barreras	57
4.3	Endogamia	61
4.4	Implicaciones en la conservación	62
5	CONCLUSIONES	68
6	LITERATURA CITADA	69
7	APÉNDICES	84
7.1	APÉNDICE I. -Documentos de acuerdo con SEDEMA	84
7.2	APÉNDICE II.- Datos de Microsatélite en formato GENEPOP.txt	87

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Grupos taxonómicos amenazados.	10
Figura 2. Estructura de la Genética de la Conservación y su relación con otras disciplinas.....	13
Figura 3. Vórtice de Extinción.....	16
Figura 4. Cuellos de Botella	17
Figura 5. Distribución geográfica de la familia <i>Ambystomatidae</i>	21
Figura 6. Ajolote arroyero montano (<i>Ambystoma altamirani</i>) en la Alcaldía Magdalena Contreras en la CDMX.....	22
Figura 7. Distribución geográfica de <i>Ambystoma altamirani</i>	25
Tabla 1. Individuos por localidades de Muestreo.	37
Figura 8. Localidades de muestreo en la Alcaldía Magdalena Contreras en la CDMX.....	38
Figura 9. Trabajo de campo y colecta de tejido.....	39
Figura 10. Procedimiento.	39
Tabla 2. Condiciones de PCR y nombre del locus con secuencia de los ocho <i>loci</i> de microsatélite.	46
Tabla 3. Estimaciones de diversidad genética por <i>locus</i>	47
Tabla 4. Estimaciones de diversidad genética por localidad.	48
Tabla 5. Cuello de Botella.	49
Tabla 6. Índices F de estructura poblacional.	49
Tabla 7. Análisis de Varianza Molecular.	50
Figura 11. Grupos genéticos identificados mediante el análisis de estructura.	51
Tabla 8. Niveles de Flujo génico	51
Figura 12. Barreras al flujo génico.....	52
Figura 13. Perfiles topográficos.....	53

RESUMEN

El ajolote arroyero montano de la Sierra de las Cruces (*Ambystoma altamirani*), es una salamandra endémica mexicana presente en la Ciudad de México (CDMX), catalogada en la Lista Roja de la IUCN, como en peligro de Extinción, y Amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010. Debido a que sus poblaciones están amenazadas por la fragmentación de hábitat, la contaminación, la introducción de especies exóticas y enfermedades infecciosas. Los análisis de tipo ecológico-genéticos permiten evaluar la diversidad genética de la población y la conectividad entre poblaciones, información necesaria para fundamentar iniciativas de conservación. Debido a que la mayoría de los anfibios dependen de hábitats terrestres ligados a cuerpos de agua, tienen baja vagilidad comparada a otros vertebrados terrestres, y una alta frecuencia filopátrica, sus poblaciones pueden representar entidades genéticas únicas a pesar de la proximidad geográfica. El objetivo del presente trabajo fue determinar la diversidad y la estructura genética e identificar factores ecológicos que expliquen la diferenciación genética que permita la implementación de estrategias de conservación. Mediante la colecta de tejido de 49 individuos en tres localidades ubicadas en la alcaldía Magdalena Contreras, CDMX, y de ocho microsatélites como marcadores genéticos para el género *Ambystoma*, se detectaron cuatro *loci* con alelos nulos, por lo que se utilizaron cuatro *loci* para hacer los análisis de diversidad y estructura genética. Se determinó la riqueza alélica, y otros parámetros de diversidad, encontrándose niveles bajos, pero sin valores altos de endogamia, así como una marcada estructura poblacional. El análisis de varianza molecular muestra mayor fuente de variación genética dentro de los individuos y entre las localidades. Se determinaron tres grupos genéticos y de acuerdo con el índice de Garza-Williamson se detectó un cuello de botella. Se encontró mayor flujo génico entre las localidades de Monte Alegre y Alta Tensión, y se encontraron dos barreras al flujo, relacionándose a un aislamiento por distancia geográfica y a la topografía. Por lo que se puede concluir que todas las localidades están suficientemente diferenciadas y podrían sugerirse como unidades de manejo (MU's) diferentes en la implementación de acciones de conservación haciendo énfasis en el mantenimiento de la diversidad mediante el flujo génico. Es necesario

favorecer las condiciones que permitan la migración mediante la conectividad entre localidades. Sin embargo, muestras de la localidad de Alta Tensión pertenecen a una misma puesta reproductiva, por lo que se sugiere ampliar el muestreo para tener datos más representativos y tomar con precaución estos resultados.

Palabras Clave: *Ambystoma altamirani*, Ajolote arroyero montano, Genética de poblaciones, Estructura genética poblacional, Conservación, Ciudad de México.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Los anfibios y su estado de conservación

Los anfibios son considerados indicadores de las condiciones de los ecosistemas, son un componente fundamental de las rutas tróficas (Santos-Barrera, *et al.*, 2022). En la historia de vida de los anfibios, los huevos son acuáticos, y eclosionan para producir una forma larvaria acuática con branquias para respirar, seguida de una metamorfosis donde pierde las mismas, dando paso a una respiración cutánea en tierra y en muchos casos, a una respiración pulmonar (Hickman, *et al.*, 2020).

Los registros hasta la fecha contemplan 8647 especies, distribuidas en 3 órdenes de las cuales el orden Gymnophiona posee 10 familias y 221 especies, el orden Anura posee 56 familias con 7603 spp, y el orden Caudata cuenta con 9 familias y 813 spp (Frost, 2023).

El origen de los anfibios se remonta al grupo Temnospondyli, el cual se conformó por varios linajes ahora extintos de vertebrados tetrápodos anamniotas durante el Carbonífero temprano, en los cuales se incluye al clado Lissamphibia, grupo que contiene a los anfibios modernos, el cual surgió durante el periodo del Carbonífero tardío y posteriormente diversificó en el periodo del Triásico temprano, generando los ancestros de los tres mayores grupos de anfibios actuales (Hickman, *et al.*, 2020).

Los anfibios vivos están representados por los clados: Gymnophiona (Cecilias), ligeramente parecidos a lombrices, carecen de extremidades, la mayoría están anilladas y en forma de cuña, cabezas muy osificadas y colas romas propios del estilo de vida excavador de estos anfibios tropicales; Anura (Ranas) de cuerpos robustos, extremidades bien desarrolladas, sin cola en etapa adulta, y un locomoción bípeda saltatoria, y Caudata (Salamandras) las cuales poseen cuerpos cilíndricos, colas alargadas, cabezas y cuello diferenciados y extremidades bien desarrolladas (Vitt y Caldwell, 2014).

Actualmente los anfibios están amenazados, la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN por sus siglas en inglés) cataloga en alguna categoría de riesgo al 41% de especies de anfibios del mundo,

además de considerar una deficiencia de datos para evaluar a otras 1,202 especies. Este es el grupo animal con la mayor cantidad de especies documentadas como amenazadas hasta el momento (Figura 1), con un porcentaje de especies en riesgo mayor al de grupos como el de los corales (33%), peces cartilagosos (33%), crustáceos (28%), mamíferos (26%), y aves (14%), presentes en la lista roja (IUCN, 2022).



Figura 1. Grupos taxonómicos amenazados. Imagen tomada y modificada de IUCN, 2022

La situación de riesgo de los anfibios en México no es distinta al panorama mundial. Para el año 2014 el país figuraba en el quinto lugar en biodiversidad de anfibios con 376 spp, el 50% de estas endémicas, y un 43% amenazadas (Parra-Olea *et al.* 2014); actualmente de acuerdo a la IUCN (IUCN, 2022) el 58% del total de especies presentes en México (243 de 419 especies), se encuentran en alguna categoría de riesgo, de las cuales 203 especies son endémicas, 49 especies vulnerables, 97 especies en peligro, y 97 especies en peligro crítico. De acuerdo con la NOM-059-SEMRNAT-2010 (SEMARNAT, 2010) 90 especies de anfibios mexicanos están sujetas a protección especial, 31 amenazadas y 13 en peligro de extinción (Santos-Barrera, *et al.*, 2022).

Particularmente, la legislación mexicana hasta antes del 2019 protegía 194 especies de anfibios en la NOM-059-SEMRNAT-2010 (SEMARNAT, 2010). La revisión de Santos-Barrera, *et al.* (2022) indican que a pesar de que la riqueza

aumentó de 376 especies a 419 especies, solo dos especies fueron incluidas en la actualización de la NOM-059-SEMARNAT-2010 para el año 2019.

En general, las poblaciones de los anfibios son disminuidas por factores como el cambio de uso de suelo (Thompson *et al.*, 2016), fragmentación del hábitat (Pineda y Halffter, 2004; Whitfield *et al.*, 2016), contaminación acuática (Taylor *et al.*, 2005, Smalling *et al.*, 2019), cambio climático (Alford *et al.*, 2007, Smalling *et al.*, 2019), introducción de especies exóticas (Galan, 1997; Whitfield *et al.*, 2016) y enfermedades infecciosas (Gleason *et al.*, 2014, Basanta *et al.*, 2019).

Estos factores mencionados anteriormente pueden actuar en sinergia, facilitando el declive de las poblaciones de anfibios incluso si las condiciones ambientales no superan límites críticos (Rohr y Palmer, 2013, Smalling *et al.*, 2019; Grant *et al.*, 2020).

Las amenazas de las especies mexicanas son del mismo tipo de en un contexto local (Parra-Olea *et al.*, 2014), destacando también la extracción y el tráfico ilegal (Santos-Barrera, *et al.*, 2022).

Se ha sugerido que al menos el 50% de especies de anfibios mexicanos microendémicas necesitan medidas urgentes de conservación ya que se ha previsto extinciones intensas entre los años 2020 a 2050 por el cambio climático (Ochoa-Ochoa *et al.*, 2011).

En la conservación de anfibios se ha recalcado la necesidad crítica de investigación fundamental sobre su historia natural, ecología, fisiología, comportamiento y evolución (Ochoa-Ochoa *et al.*, 2011, 2012; Whitfield *et al.*, 2016; Grant *et al.*, 2019). De esta forma se pueden proponer algunas estrategias de conservación, como el reconocer zonas climáticamente heterogéneas, asociadas a las cadenas montañosas, es relevantes para el mantenimiento de la diversidad de anfibios, las cuales constituyen áreas prioritarias de conservación (Ochoa-Ochoa *et al.*, 2011).

Algunos principios y prácticas que apoyan la conservación son de índole genético (Loo, 2011) en un área llamada genética de poblaciones, esta disciplina es parte central de la teoría evolutiva, y sus aportaciones a la biología de la conservación que han ido creciendo conforme incrementan estudios teóricos y

empíricos, integrando esta así a la disciplina a lo que ahora se conoce como genética de la conservación (Rocha y Gasca, 2007).

1.2. Genética de la Conservación

La genética de poblaciones es la ciencia que estudia los procesos y factores que cambian o mantienen las frecuencias alélicas en las poblaciones a través del tiempo o a través de las generaciones (Cutter, 2019). Esta ciencia es la base de otras disciplinas como la Genética Evolutiva, la Ecología Genética y Molecular (Wright, 1978; Rocha y Gasca, 2007; Balkenhol, 2016; Saetre y Ravinet, 2019;). Estas disciplinas usan herramientas y análisis estadísticos de la Biología Molecular para la resolución de preguntas y problemas ecológicos y evolutivos (Eguiarte *et al.*, 2007; Freeland y Petersen., 2020).

Particularmente este enfoque es conocido como Ecología Genética o Molecular, ciencia que pretende comprender los procesos de la dinámica poblacional que determinan la distribución de la diversidad genética (Merrel, 1981), reconociendo la importancia de la historia de vida de las especies y las características de dispersión en la determinación de la heterogeneidad en las frecuencias alélicas a través de una población ocasionada por un limitado flujo génico o estructura genética poblacional (Wright, 1946).

Aunque la dispersión y el flujo génico no son sinónimos generalmente están correlacionados (Bohonak, 1999), debido a que la dispersión se refiere al movimiento de individuos (esporas, semillas, larvas, etc.) fuera u ocasionalmente dentro de una población, emigrando cuando se aleja de la población de origen e inmigrando a una población nueva (Merrel, 1981); mientras que el flujo génico es el resultado del cruce entre individuos residentes e inmigrantes de diferentes poblaciones (Saetre y Ravinet, 2019).

Además de la historia de vida particular de cada especie, la dispersión está determinada en gran medida por las características del paisaje y hábitat (Geffen *et al.*, 2004), ya que hay procesos que pueden fragmentar o aislar a las poblaciones, la consideración detallada de las variables ecológicas que por consiguiente ambos

factores pueden generar patrones de divergencia entre poblaciones (Manel *et al.*, 2003;).

Para comprender el proceso de diferenciación poblacional es fundamental los análisis de tipo ecológico-genéticos que son útiles para fundamentar iniciativas de conservación, especialmente para especies en paisajes fragmentados (Parsley *et al.*, 2020), debido a que mediante el conocimiento de la distribución de la variación genética en las poblaciones de los organismos la genética se puede guiar estrategias hacer manejo de poblaciones fragmentadas (Frankham *et al.*, 2017).

Es por eso que en este contexto surge la Genética de la Conservación, la cual, apoyándose con la ecología genética y otras ciencias, como la Ecología del Paisaje, la Biología Molecular, la Biología de las Enfermedades, entre otras disciplinas relacionadas a la Biología de la Conservación (Figura 2), tiene como objetivo reducir el riesgo de extinción de especies amenazadas, preservándolas como entidades dinámicas capaces de hacer frente al cambio ambiental (Frankham *et al.*, 2010).

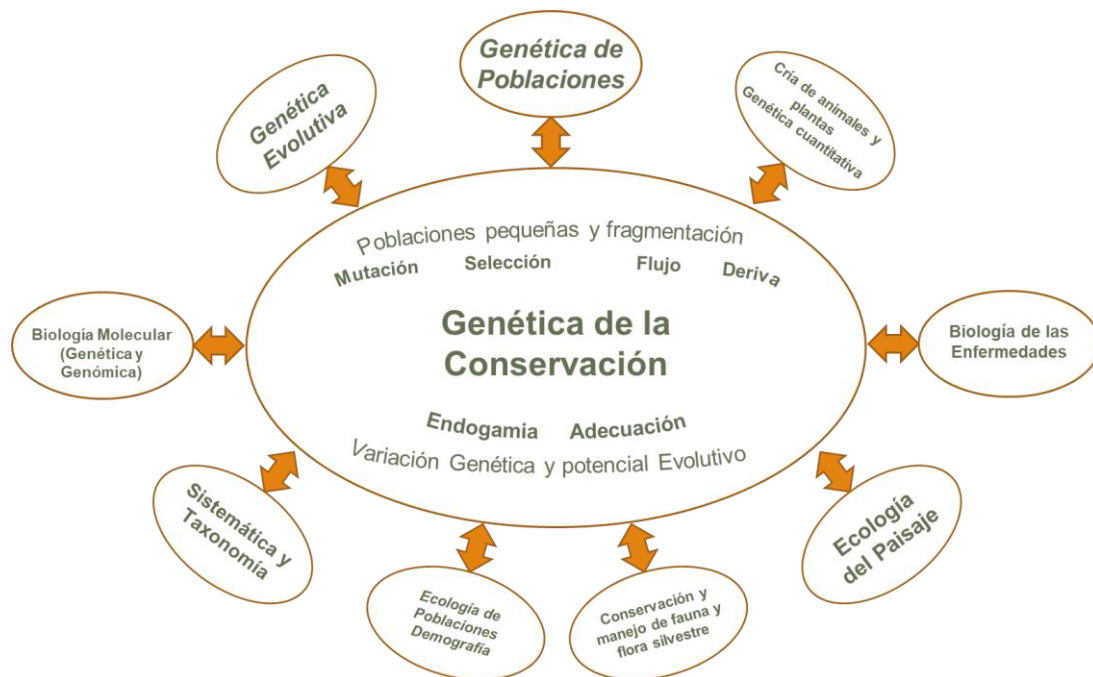


Figura 2. Estructura de la Genética de la Conservación y su relación con otras disciplinas Imagen tomada y modificada de Frankham *et al.*, 2017

Ante la crisis de biodiversidad que se conoce como la “sexta extinción masiva” la genética de la conservación, como todos los componentes de la biología de la conservación, está motivada por la necesidad de preservar la biodiversidad y reducir las tasas actuales de extinción, considerando asegurar los bio-recursos agroalimentarios, biotecnológicos o biomédicos, los servicios ecosistémicos como las funciones biológicas esenciales provista por los organismos vivientes invaluable, pero de repercusión económica; así como de conservar por la ética de que una especie no tiene derecho a llevar al resto de especies a la extinción (Frankham *et al.*, 2010).

La diversidad genética es uno de los tres niveles de biodiversidad (diversidad genética, de las especies y de los ecosistemas) recomendados por la UICN para conservar (McNeely *et al.*, 1990).

El uso de datos genéticos y genómicos permiten estimar la magnitud de parámetros como la endogamia, la heterocigosidad, o las distancias genéticas que permitan conocer procesos microevolutivos como la deriva genética o flujo de genes han sido esenciales en la conservación de vertebrados y las especies en general (Fan *et al.*, 2018, Leitwein *et al.*, 2020).

Las poblaciones fragmentadas con un flujo de genes inadecuado entre los segmentos de la población sufren problemas genéticos como la endogamia y capacidad reproductiva reducida asociada (depresión endogámica) con elevados riesgos de extinción, así como pérdida de diversidad genética y capacidad reducida para adaptarse evolutivamente al cambio ambiental (Frankham *et al.*, 2010)

Por ende, uno de los principales factores a tomar en cuenta en la conservación genética tanto en poblaciones silvestre como en cautivas es la endogamia, la cual se define como una de las formas de apareamiento no aleatorio dado por el apareamiento entre parientes genéticos cuyo efecto sobre la población es el aumento de la frecuencia de homocigotos en comparación con lo esperado según el Equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE), (Keller y Waller, 2002; Herron, y Freeman, 2014) dando como resultado un aumento en la homocigosidad, y por tanto

favorecer la expresión de alelos deletéreos recesivos más frecuentes en la población (Hu *et al.*, 2017; Fan *et al.*, 2018) .

La endogamia puede conllevar a una reducción de la adecuación promedio de la población, llamado depresión endogámica, reduciendo el potencial evolutivo de las poblaciones para adaptarse a un entorno cambiante (Loo, 2011), debido a una mayor probabilidad de homocigosis de alelos deletéreos recesivos (Vizmanos-Pérez, 2014) afectando la supervivencia, la reproducción, reduciendo a los individuos reproductivos y por consiguiente a las poblaciones (Keller y Waller, 2002).

Un proceso microevolutivo que también modifica las frecuencias alélicas de manera similar es la deriva génica (Loo, 2011) que, a diferencia de la endogamia, son cambios aleatorios en la frecuencia de alelos de una generación a la siguiente en poblaciones biológicas debido a las muestras finitas de individuos, gametos y, en última instancia, alelos que contribuyen a la siguiente generación (Hamilton, 2009).

La deriva genética aumenta a medida que disminuye el tamaño poblacional debido a que las poblaciones pequeñas suelen tener niveles más bajos de diversidad genética que las poblaciones grandes, debido a que los alelos se pierden en poblaciones pequeñas durante el muestreo aleatorio a medida que los padres transmiten sus genes a sus hijos. (Frankham *et al.*, 2010; Vizmanos-Pérez, 2014).

Por lo tanto, los impactos genéticos de la fragmentación de la población dependen críticamente entre del flujo de genes entre fragmentos y sus tamaños efectivos debido a que poblaciones pequeñas son susceptibles a la endogamia (Freeland y Petersen, 2020).

Es importante considerar el tamaño efectivo poblacional, el cual es el número de individuos reproductivos, es decir, que contribuyen a la generación siguiente en términos demográficos y sobre todo genéticos, que normalmente es un número menor al tamaño poblacional censal (Vizmanos-Pérez, 2014). Cuando el tamaño efectivo poblacional es muy pequeño, se ha sugerido que los fenómenos

estocásticos incrementan el efecto de los problemas genéticos, por lo que la población sufre un vórtice de extinción (Rocha y Gasca, 2007).

Dicho vórtice de extinción (Figura 3) es un modelo conceptual que describe las posibles interacciones entre impactos antropogénicos, factores ambientales, genéticos y la inestabilidad demográfica en una espiral descendente a la extinción, debido a la complejidad de estas interacciones es extremadamente difícil identificar las causas inmediatas de cualquier evento de extinción particular (Frankham *et al.*, 2017).

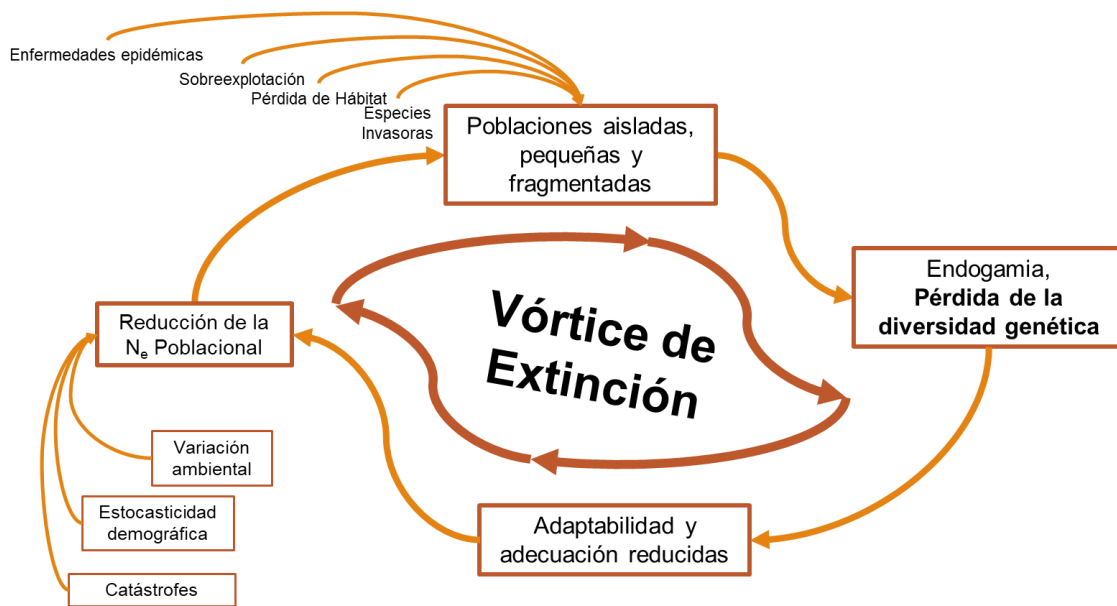


Figura 3. Vórtice de Extinción. Imagen tomada y modificada de Frankham *et al.*, 2010

Las reducciones drásticas en los tamaños efectivo (N_e) de la población pueden repercutir en los niveles de variación genética ya que, si las poblaciones permanecen pequeñas por largos periodos de tiempo, la deriva génica generará cambios al azar en las frecuencias alélicas reflejándose una pérdida de variación genética (Rocha y Gasca, 2007). Si la pérdida de diversidad genética ocurre en asociación con la reducción del tamaño de la población, ocurre un proceso conocido como “cuello de botella genético” (Loo, 2011) (Figura 4). Es importante entender los efectos de los cuellos de botella poblacionales para predecir los impactos de la fragmentación actual del hábitat (Loo, 2011),

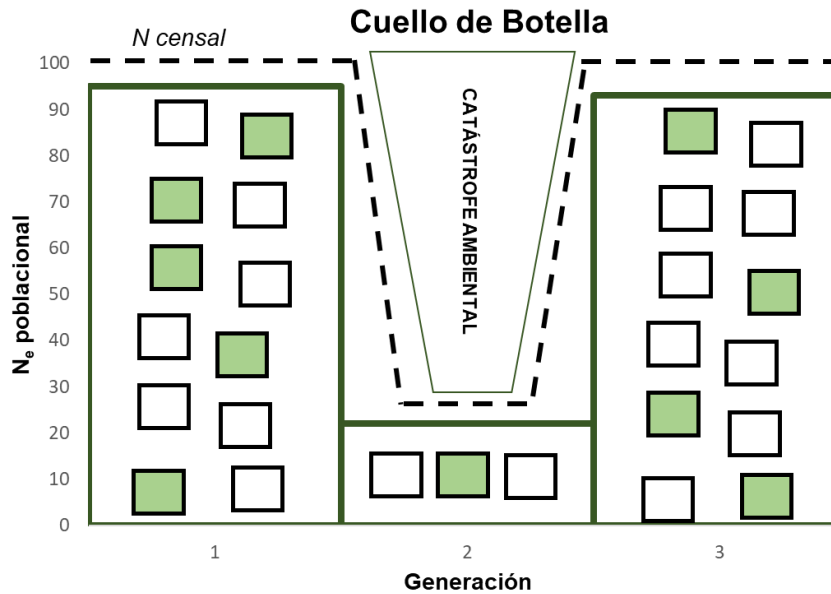


Figura 4. Cuellos de Botella, los cuadros de colores representan las frecuencias alélicas. Imagen tomada y modificada de Hamilton 2009.

1.2.1. Estrategias de conservación basadas en el conocimiento genético poblacional

Las propuestas de conservación que se ofrecen desde la genética de la conservación varían desde las traslocaciones como rescate y restauración genética, bancos de diversidad genéticos y la reproducción en cautiverio (Freeland y Petersen, 2020).

Aunque la estrategia más obvia de conservación es el restablecimiento del flujo génico entre localidades con el fin de aumentar el vigor híbrido (heterocigosis) para evitar los efectos de la depresión endogámica, hay que tener cuidado con la cruce de individuos sin parentesco de poblaciones distantes, y que puede resultar un efecto conocido como depresión exogámica (desadaptación) (Loo, 2011).

La depresión exogámica es la reducción en valor adaptativo de la progenie en relación con la de sus progenitores debido a la cruce de individuos de la misma especie que son muy diferentes por adaptación local a sus respectivos ambientes en poblaciones separadas reproductivamente, por lo que la disrupción de estas

características por entrecruzamiento podría resultar en individuos poco adaptados a cada ambiente particular (Rocha y Gasca, 2007).

Sin embargo, una estrategia más básica, que además ayuda a lidiar con los problemas de imprecisión en la clasificación taxonómica como la definición de especies o subespecies es la definición de Unidades de Conservación (Freeland y Petersen, 2020). Conociendo las variaciones de la diversidad genética por acciones antropogénicas, se ha permitido implementar acciones de manejo tomando en cuenta las diferencias adaptativas y el flujo génico entre las poblaciones, definiendo Unidades de Conservación, ayudando así a los gestores a proteger la biodiversidad. (Manel *et al.*, 2003, Rocha y Gasca, 2007). Algunas formas de Unidades de Conservación son:

- **Unidad Evolutivamente Significativa** (ESU por sus siglas en inglés) prioriza la protección de grupos recíprocamente monofiléticos para alelos de ADN mitocondrial (*mtADN*) restringidos geográficamente, con una historia evolutiva-genética única, por lo cual se necesita protección exclusiva para cada grupo (Moritz, 1994 y Manel *et al.*, 2003).
- **Unidad de Manejo** (MU por sus siglas en inglés) cualquier población que intercambie pocos migrantes con otras hasta ser genéticamente distinto de aquellas que normalmente serían demográficamente independiente en el tiempo presente (Awise, 2000) favoreciendo la conservación de grupos de poblaciones entre las cuales el grado de conectividad es tan bajo que cada grupo debe ser monitoreado y manejado por separado, dando seguimiento a cambios en la variabilidad genética a corto plazo (Taylor y Dizon, 1999).
- **Unidad de Acción** (AU por sus siglas en inglés) se implementa en poblaciones cautivas para su reintroducción y liberación. Sin embargo, antes de llevar a cabo los planes de reintroducción y liberación, se debe investigar el estado de la diversidad genética de las poblaciones candidatas para identificar los sitios apropiados donde las poblaciones tienen una variabilidad genética similar a las de reproducción (Qiu-Hong *et al.* 2004).

- **Unidad de Red Familiar** (FN por sus siglas en inglés) evalúa prácticas de manejo, estableciendo el parentesco e identificando individuos para poder minimizar la reproducción entre parientes cercanos (Qiu-Hong *et al.* 2004).

1.3. Modelo de estudio

1.3.1 Los anfibios en genética poblacional

Los anfibios son un buen modelo de estudio para la genética de la conservación, ya que la mayoría dependen de hábitats acuáticos y terrestres, tienen capacidades de desplazamiento (vagilidad) baja comparado con otros vertebrados terrestres, alta frecuencia a reproducirse en el mismo territorio donde nacieron (filopatría), y exhiben poblaciones que pueden representar entidades genéticas únicas a pesar de la proximidad geográfica (Waldman y Tocher, 1997; Jehle y Arntzen, 2002; Smith y Green, 2005).

Se ha demostrado que los anfibios son especies que han sido afectadas por la fragmentación del hábitat debido al cambio de usos de suelo (Pineda y Halffter, 2004; Whitfield *et al.*, 2016). El grado de fragmentación de hábitat estará determinando la dirección e intensidad de la dispersión, la estructura y flujo génico de las poblaciones de anfibios (Wang, 2009; Lenhardt *et al.*, 2017, Sandberger-Loua *et al.*, 2017).

Esta información puede ser recabada mediante el uso de marcadores moleculares (Freeland y Petersen, 2020, Rentarúa Alcántara, 2007). Un marcador molecular es una secuencia de ADN, una molécula identificable o incluso una característica morfológica que puede ser asociada con un locus particular (Isoenzimas, Aloenzimas, RAPDs, SNPs, AFLP, RFLP, SSR entre otros) (Rentarúa Alcántara, 2007; Loo, 2011)

Específicamente los microsatélites (SSR) son secuencias repetidas de DNA muy cortas de dos a seis nucleótidos o complejos que no codifican para proteínas por lo que las mutaciones no tienen efectos negativos sobre la supervivencia de los organismos, por lo que son bastante útiles como marcadores (Rentarúa Alcántara, 2007).

El uso de microsatélites en estudios para la conservación de anfibios ha permitido medir el flujo genético local y la migración, asignar individuos a su población de origen más probable, medir el tamaño efectivo de la población a través de la comparación entre generaciones de las frecuencias alélicas, así como la detección de cuellos de botella demográficos pasados a través de las distorsiones de las frecuencias alélicas (Jehle y Arntzen, 2002).

En México, el uso de los microsatélites y otros marcadores moleculares han sido relevantes para integrar datos genéticos, geográficos y ecológicos para informar estrategias de conservación en diferentes especies mexicanas (Rico, 2019) como es el caso de las salamandras con poblaciones en la Sierra Volcánica Transmexicana *Pseudoeurycea leprosa* (Velo-Antón *et al.*, 2014) o el Ajolote de Río Frío *Ambystoma leorae* (Sunny *et al.*, 201b) especies donde se encontró aislamiento espacial y genético entre poblaciones

1.3.2 El Ajolote

Un grupo de anfibios que recientemente ha despertado el interés por su conservación lo representan las especies de salamandras del género *Ambystoma*, denominados ajolotes (o axolotes), particularmente el axolote mexicano (*Ambystoma mexicanum*) debido a que es un modelo de anfibio versátil para estudios de regeneración, desarrollo y evolución, siendo un tema de investigación importante debido a su capacidad única para regenerar extremidades y órganos internos (Voss *et al.*, 2009; 2015).

Los estudios se han enfocado principalmente en la importancia de entender la biología básica de los ajolotes para criar, reproducir y estudiar la mayoría de los aspectos de su biología (Farkas y Monaghan, 2015) recientemente se ha despertado el interés en su genómica (Nowoshilow, *et al.*, 2018).

Una especie particular que se ha estudiado como modelo en el estudio de la microbiota de la piel y cómo cambia durante la metamorfosis ha sido el ajolote arroyero de montaña o ajolote de la Sierra de las Cruces (*Ambystoma altamirani*) (Martínez-Ugalde *et al.*, 2002) el cual también ha recibido interés en comunidades locales del Estado de México ha despertado interés en pobladores jóvenes y adultos

mayores residentes que han ligado su presencia desde a saberes y conocimientos tradicionales que los relacionan a la calidad del ambiente (Vázquez-Trejo, 2020).

1.3.2.1 Clasificación taxonómica de los ajolotes

Los ajolotes o axolotes, son anfibios del orden Caudata y la familia *Ambystomatidae* integrada por 30 especies, de las cuales 26 especies se encuentran en el género *Ambystoma* y cuatro en el género *Dicamptodon* (Frost, 2023). Los ajolotes se distribuyen en Norteamérica hasta el sur de la meseta mexicana (Vitt y Caldwell, 2014) (Figura 5). Se caracterizan por poseer un cuerpo pesado, cola gruesa con cuatro extremidades cortas bien desarrolladas, con tamaños de 80-550 mm, generalmente >160mm de longitud total, mandíbula inferior con huesos angulares y pre-articulares fusionados; la mandíbula superior tiene premaxilares y maxilares emparejados, y el lagrimal está ausente (Vitt y Caldwell, 2014).

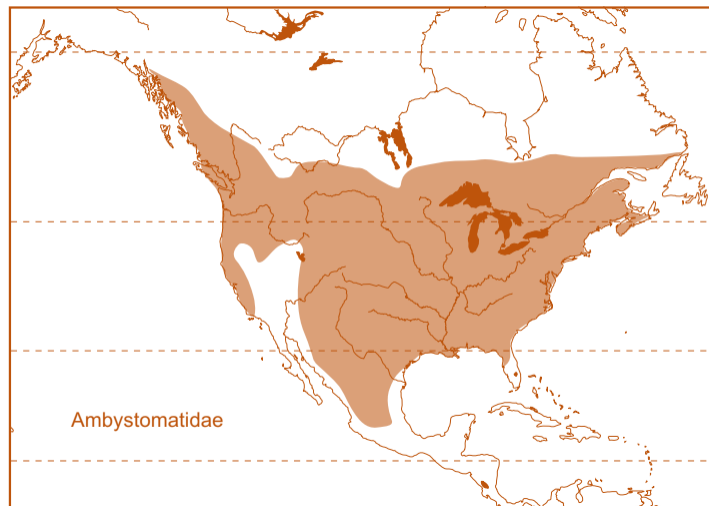


Figura 5. Distribución geográfica de la familia *Ambystomatidae*. Imagen tomada y modificada de Vitt y Caldwell, 2014.

En la mayoría de las especies de *Ambystoma* los adultos carecen de branquias, hendiduras branquiales y tienen párpados móviles, sin embargo, en algunas especies de ajolotes se presenta el fenómeno de neotenia, donde algunas especies como *Ambystoma mexicanum*, *A. tigrinum*, *A. gracile*, o *A. talpoideum* conservan rasgos larvarios (Vitt y Caldwell, 2014) y son conocidos como

pedomórficos, es decir que no pasan por una metamorfosis y conservan los rasgos larvarios durante toda la vida como las branquias externas y las aletas caudales propias de su modo de vida acuático (Voss *et al.*, 2015).

En México se distribuyen 18 especies del género *Ambystoma*, entre ellas se encuentra el ajolote de arroyo de montaña o ajolote de la Sierra de las Cruces (*Ambystoma altamirani* Dugès, 1895) (Figura 6), esta especie se puede encontrar en la literatura científica con las sinonimias *Rhyacosiredon altamirani*, *R. zempoalensis*, *Ambystoma zempoalensis* o *altamiranoi* (Frost, 2023). *Ambystoma altamirani* es una especie endémica de México, y una de las 18 especies de anfibio presentes en la Ciudad de México (CONABIO/SEDEMA, 2016).



Figura 6. Ajolote arroyero montano (*Ambystoma altamirani*) en la Alcaldía Magdalena Contreras en la CDMX Fotografías de Biol. Rafael Alejandro Calzada-Arciniega

1.3.2.2 Descripción morfológica de *Ambystoma altamirani*

Al igual que otros ajolotes, son anfibios que no presentan un surco nasolabial, surcos costales poco desarrollados y dientes paraesfenoides ausentes, con dientes

vomerianos en los adultos; sin dientes premaxilares, boca no fuertemente papilada (Ramírez-Bautista *et al.*, 2009).

En la descripción original (Dugès, 1895) se reconoció como una especie metamórfica, que presenta coloración sepia obscuro, salpicado de puntos negros en las regiones superiores, sin embargo, individuos que conservan las branquias presentan una coloración moreno-pálida con manchas negras. El color del cuerpo es oscuro con manchas pardo-amarillentas de forma irregular. El vientre es amarillo claro. En organismos pequeños, las manchas son proporcionalmente más pequeñas (Ramírez-Bautista *et al.*, 2009)

La cabeza es grande de forma ovalada, con dientes mandibulares prevomerianos, presenta orificios nasales pequeños. La forma del cuerpo es aplanada dorsoventralmente; presenta 10 surcos laterales entre las extremidades (SEMARNAT, 2018). Su peso oscila entre los 32 y los 45 g. (SEMARNAT, 2009) y los individuos son de forma alargada y un tamaño medio del cuerpo de 70.4 ± 3.2 mm, la longitud de la cola 70.9 ± 5.3 mm, el largo de la cabeza, ± 2.4 mm, el ancho de la cabeza 17.4 ± 0.62 mm, y la altura de la cola de 13.0 ± 0.99 mm (Ramírez-Bautista *et al.*, 2009)

1.3.2.3 Distribución

Esta especie se encuentra localizado dentro de montañas de la provincia biogeográfica de la Faja Volcánica Transmexicana (Rodríguez-Bautista, *et al.*, 2009; CONABIO/SEDEMA, 2016) (Figura 7). La especie habita en zonas con presencia de masas de cuerpo de agua corriente con mucho oxígeno disuelto en lagos y arroyos de alta montaña, con bosques de pino, oyamel y pastizales de montaña (Lemos-Espinal, 1999; Lemos-Espinal, 2003; IUCN, 2020).

Se restringe al oeste y sur del Valle de México en la Sierra de Las Cruces en los estados de Morelos, Estado de México y la Ciudad de México, presente en arroyos dentro del Parque Nacional Lagunas de Zempoala, del Parque Nacional Cumbres del Ajusco y del Parque Nacional Desierto de los Leones (Woolrich-Piña *et al.*, 2017; SEMARNAT, 2018) con un área de distribución aproximada de $9,273.5$ km² (Heredia-Bobadilla y Sunny, 2021) y una distribución altitudinal que va de los

2,700 msnm hasta los 3,450 msnm (Lemos-Espinal, 1999; Lemos-Espinal, 2003; IUCN, 2022).

En el Estado de México se distribuye en Villa del Carbón, PAPIIT de la DGAPA con la clave IA207821 Isidro Fabela, Huixquilucan, Ocoyoacac y Lerma (Ramírez-Bautista *et al.*, 2009; Lemos-Espinal, 2003; Lemos-Espinal, 1999) junto con la alcaldía Cuajimalpa de la Ciudad de México, que forman el Área Natural Protegida (ANP), Parque Nacional Miguel Hidalgo (PNMH) que cuenta con una extensión de 1,760 hectáreas (Ramírez-Bautista *et al.*, 2009, Heredia-Bobadilla y Sunny, 2021).

En la Ciudad de México se localiza en el Parque Nacional Desierto de los Leones (PNDL) en Cuajimalpa, con 1,529 hectáreas. Así como también en las alcaldías Magdalena Contreras y Tlalpan, en el Parque Nacional Cumbres del Ajusco (PNCA), en Llano de Lobos y el arroyo los Axolotes en la Sierra de las Cruces (Heredia-Bobadilla y Sunny, 2021).

En el estado de Morelos se distribuye en los municipios Huitzilac y Ocuilán, siendo parte del Parque Nacional Lagunas de Zempoala (PNLZ), una ANP con 4,790 hectáreas (Ramírez-Bautista, *et al.*, 2009; Heredia-Bobadilla *et al.*, 2017; Guerrero de la Paz *et al.*, 2020; Villarreal-Hernández *et al.*, 2020; Heredia-Bobadilla y Sunny, 2021).

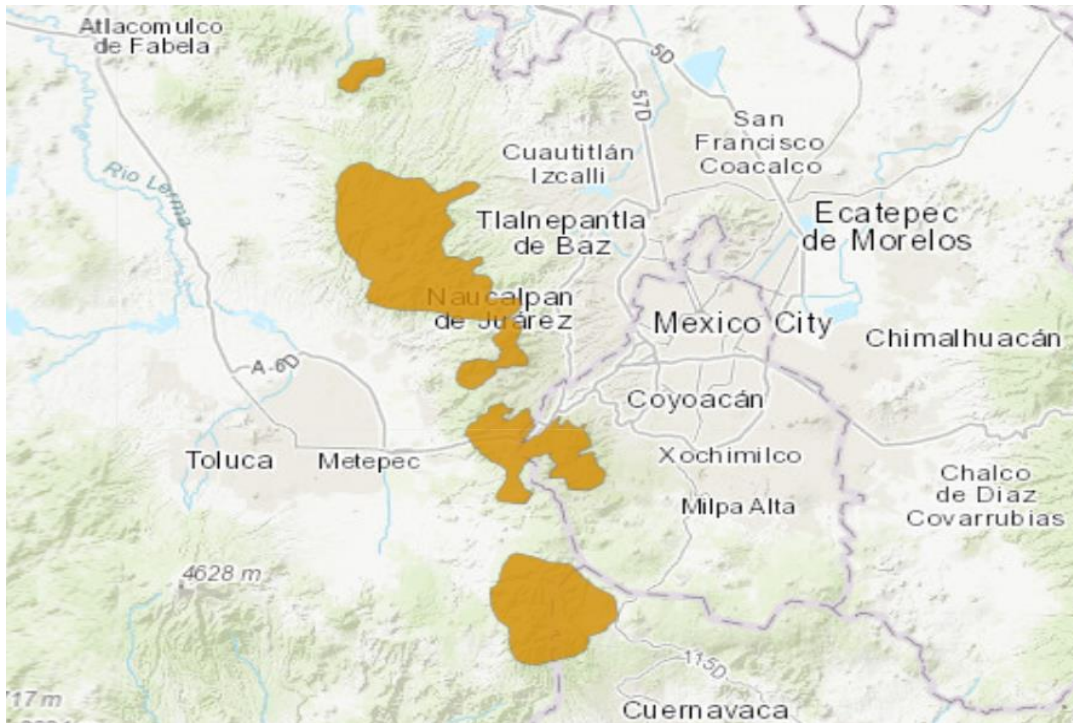


Figura 7. Distribución geográfica de *Ambystoma altamirani*. Imagen tomada y modificada de IUCN, 2022.

1.3.2.4 Hábitat

Ambystoma altamirani habita las partes más altas de los bosques de coníferas, en cuerpos de agua con corriente, como arroyos o pequeños ríos, (Rodríguez-Bautista, 2009), principalmente bosque de pino-encino de gran altitud (Woolrich-Piña *et al.*, 2017).

La vegetación circundante a los arroyos donde se ha registrado la especie incluye bosques de oyamel (*Abies religiosa*), en bosque mixtos de *Abies religiosa* y *Pinus montezumae*, en bosque de *Pino hartwegii*, y en pastizales de *Festuca sp.*, *Stipa sp.*, y *Muhlenbergia sp.* (Vazquez-Trejo, 2020).

El clima es templado subhúmedo con verano fresco largo con temperatura media anual entre 5° a 18°C, temperatura del mes más frío entre -3°C y 18°C, temperatura del mes más cálido entre 10°C y 22°C, precipitación anual de 200 mm a 1,800 mm, y precipitación del mes más seco de 0 mm a 40 mm (Lemos-Espinal, 2003).

Las condiciones fisicoquímicas del agua necesarias para la sobrevivencia del ajolote arroyero montano son temperaturas menores a 20° C y una concentración

de oxígeno mayor a los 6 mg/l (CONANP, 2009). Se encuentra en sitios lóticos con menor velocidad de flujo de agua, no utilizan sustratos de roca madre o sitios que carecen de vegetación, y se encuentran usando sustrato de lodo obscuro (Lemos-Espinal, *et al.*; 2015; 2016; Hernández, *et al.*, 2020; Vázquez-Trejo, 2020).

1.3.2.5 Alimentación

Los ambystomátidos por lo general tienen una dieta carnívora, que incluye insectos y pequeños peces (Ramírez-Bautista, *et al.*, 2009), La mayoría de ajolotes poseen una lengua grande y carnosa que dejan caer sobre su presa (Vitt y Caldwell, 2014). *Ambystoma altamirani* tiene una estrategia de forrajeo tanto activa como de espera, es una especie carnívora de actividad acuática diurna alimentándose de invertebrados como insectos, anélidos y moluscos (Ramírez-Bautista, *et al.*, 2009).

Esta especie en su etapa larvaria posee una dieta limitada a gasterópodos, ostrácodos e insectos; en su etapa larval los hace muy dependientes a la cantidad de recursos disponibles (Lemos-Espinal, *et al.*, 2015, Lemos-Espinal, *et al.*, 2016).

Entre los órdenes de insectos que consume reportados se encuentran, coleópteros, dípteros, efemerópteros, y tricópteros (Guerrero de la Paz *et al.* 2018). En adultos de la especie se ha visto practicar el canibalismo hacia las larvas y es probable que esta práctica aumente cuando el alimento escasea, (Rodríguez, 2009). Igualmente se ha encontrado que *A. altamirani* puede alimentarse de individuos de la especie de ranas de *Dryophytes plicatus* (Lemos-Espinal *et al.*, 2016a, Vazquez-Trejo, 2020).

1.3.2.6 Ciclo de vida y reproducción

La mayoría de ajolotes tienen un periodo larvario de tres a cuatro meses, los adultos poseen fecundación interna, las hembras cuentan con espermatecas en cloaca. La mayoría de las especies terrestres durante su etapa adulta regresan al agua para reproducirse, donde los machos cortejan “bailando” y empujando a las hembras para depositar numerosos espermátóforos que las hembras recogerán en paquetes para depositar sus óvulos. Posteriormente se abandonan los estanques y permanecen bajo tierra hasta el año siguiente. (Vitt y Caldwell, 2014).

La llegada de la primavera está asociada con la actividad reproductora de varias especies de *Ambystoma*, ya que los patrones anuales de reproducción que presentan parecen originarse de las temperaturas combinadas con la saturación de humedad de la tierra que induce la actividad. (Rodríguez-Bautista, *et al.*, 2009).

Para *Ambystoma altamirani* se han encontrado huevos en grupos muy variables de hasta cerca de 20 huevos, a profundidades de 10 cm a 20 cm por debajo de la superficie, adheridos debajo de partes sobresalientes de rocas, vegetación acuática, y enterrados en el lodo del fondo del arroyo. Sin embargo, la fenología de las puestas ha sido muy variable (García-Rodríguez, 2013, Villarreal-Hernández, 2019, Vazquez-Trejo, 2020).

En Jilotzingo, en el Estado de México se ha registrado una época reproductiva estimada de noviembre a marzo, además de que se ha relacionado la longitud hocico-cloaca con el tamaño de la puesta en hembras, en condiciones de semicautiverio las puestas tuvieron mejores resultados comparado con puestas en condiciones de cautiverio, teniendo complicaciones de supervivencia y metamorfosis a los cinco meses (García-Rodríguez, 2013).

Sin embargo, en Isidro Fabela Estado de México, se reportó la época reproductiva de diciembre a abril (Vazquez-Trejo, 2020). De manera general se han observado puestas reproductivas en distintos periodos de tiempo, por lo que se ha propuesto que hay más de una temporada reproductiva de *A. altamirani*, ya que es capaz de reproducirse mientras posea condiciones óptimas y no haya desecación de los cuerpos de agua (Ramírez-Bautista, *et al.*, 2009; Rodríguez-Reyes, 2009; García-Rodríguez, 2013; Lemos-Espinal *et al.*, 2016b; Villarreal-Hernández, 2019).

1.3.2.7 Antecedentes en ecología y demografía

En general salamandras y ajolotes, como *Plethodon glutinosus*, *Ambystoma macrodactylum* y *A. tigrinum*, se agrupan en refugios húmedos cuando el medio terrestre se vuelve excesivamente seco, con migraciones más o menos unidireccionales moviéndose en masa hacia y desde los estanques de reproducción (Vitt y Caldwell, 2014).

Se sabe que en las migraciones de la salamandra manchada *A. maculatum*, el sistema olfatorio está muy involucrado en la orientación ya que migra en las noches nubladas y lluviosas, pero localiza estanques, discriminando entre las fuentes de olor, orientándose preferentemente hacia el olor de su estanque de origen (Vitt y Caldwell, 2014).

Se ha sugerido que las salamandras podrían tener una vagilidad mayor a lo anteriormente supuesto, como es el caso de *A. maculatum* (Davis *et al.* 2023) donde los individuos pueden regresar al mismo sitio de reproducción año tras año, a la vez que también pueden moverse distancias más largas para encontrar nuevos sitios de reproducción, debido a la competencia por los recursos o cambios en la calidad del hábitat.

La competencia afecta a las larvas de varias especies de *Ambystoma*, las larvas que sobreviven son las que se transforman más rápidamente y crecen de talla en función de la densidad de competidores y depredadores. Aunque sus tallas y crecimiento poblacional disminuyen por condiciones del hábitat cuando la densidad poblacional es muy alta (Vitt y Caldwell, 2014).

Se ha documentado que, en el Parque Nacional de Lagunas de Zempoala, la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) se alimenta de los mismos grupos de los que se alimenta *Ambystoma altamirani* sugiriendo una fuerte competencia por recursos. (Guerrero de la Paz *et al.* 2018)

Se sabe que *Ambystoma altamirani* cohabita con la rana *Dryophytes plicatus* teniendo coocurrencia negativa, debido a que ambas especies utilizan tramos de arroyos con características diferentes. *A. altamirani* se encuentra en sitios con mayor velocidad de flujo, no utilizan sustratos de roca madre o sitios que carecen de vegetación, y se encuentran en sustrato negro. Estas observaciones sugieren que la velocidad del agua y el tipo y color del sustrato pueden dividir a estas dos especies, más que la posibilidad de que se estén excluyendo por depredación mutua (Lemos-Espinal, *et al.*; 2015; 2016; Villareal-Hernández, *et al.*, 2020)

Ambystoma altamirani también se ha visto depredado por humanos, por dos especies de culebras (*Thamnophis scalaris* y *Thamnophis scaliger*), y larvas de libélula o náyades, así como el canibalismo intraespecífico que se ha sugerido

podría tener efectos en la dinámica poblacional al aumentar esta práctica con el escaseo de recursos (Rodríguez-Reyes, 2009, Lemos-Espinal, 2003; García-Rodríguez, 2013).

Respecto a la demografía se han realizado monitoreos, donde la especie presenta mayor abundancia durante los meses de primavera en el Parque Nacional Lagunas de Zempoala (CONANP, 2009). Se conocen aspectos de dinámica poblacional en el Río Magdalena (Rodríguez-Reyes, 2009) donde las poblaciones tienen una tasa de crecimiento estable, aun con bajas tasas de supervivencia de huevos y recién eclosionados, que aumenta, por lo que se sugiere que esa población puede ser considerada un foco de conservación.

En el en el municipio de Jilotzingo, en el Estado de México esta especie ha registrado un declive poblacional por contaminación y destrucción de hábitat (García-Rodríguez, 2013). En el Parque Nacional Lagunas de Zempoala una población estudiada se estimó un tamaño poblacional ligeramente mayor a 211 individuos por el método captura-recaptura de Schnabel con la probabilidad de supervivencia en la población fue constante, pero la probabilidad de recaptura y transición de estadios variaron a través del tiempo y una probabilidad de supervivencia promedio en juveniles y adultos fue de 0.89 y de 0.97, respectivamente, además ese año se reportó ausencia de otras tres poblaciones anteriormente registradas (Guerrero de la Paz, 2018),

En cuanto a la demografía registrada en el municipio Isidro Fabela, Estado de México, a través de muestreos mensuales a lo largo de un año, se han encontrado tamaños poblacionales muy variables con picos más grandes entre abril y junio de cerca de 160 individuos en las tres localidades. Además, esta especie en esta localidad ha despertado interés en pobladores residentes que han ligado su presencia desde a saberes y conocimientos tradicionales que los relacionan a la calidad del ambiente (Vazquez-Trejo, 2020)

1.3.2.8 Antecedentes en genética

Parra-Olea, *et al.*, (2007) desarrollaron nueve marcadores de microsatélites polimórficos para salamandras del género *Ambystoma*, estos marcadores fueron

utilizados en un estudio para evaluar la diversidad genética entre las poblaciones de siete especies de salamandras endémicas de México de este género, incluidas las poblaciones facultativamente y obligatoriamente pedomórficas.

Derivado del desarrollo de estos marcadores se reporta que las poblaciones de distintas especies de ajolotes en México tienen baja diversidad genética y conectividad poblacional limitada, mostrando evidencia de cuellos de botella, demostrando que las poblaciones tienen bajo flujo génico interpoblacional entre especies (Parra-Olea *et al.* 2011). El estudio también encontró que las poblaciones pedomórficas tienen mayor relación dentro de la población que la mayoría de las poblaciones metamórficas, por lo que los resultados sugieren que el manejo de la conservación de *Ambystoma* en México debe considerar la conectividad entre poblaciones para asegurar la conservación de la diversidad genética. El estudio también probó la utilidad de los marcadores moleculares en la asignación de individuos recolectados ilegalmente a sus poblaciones de origen (Parra-Olea *et al.* 2011).

Además de que el flujo génico ocurre entre distintas especies, algunas especies muy estrechamente relacionadas con *Ambystoma altamirani* son *A. rivulare* y *A. leorae* (Weisrock *et al.*, 2006, O'Neill *et al.*, 2012; Everson *et al.*, 2021)

Se han realizado algunos estudios en genética poblacional de diversidad y estructura como en *Ambystoma leorae* (Sunny *et al.*, 2014a) en varias localidades del Parque Nacional Izta-Popo, Zoquiapan, el cual encontró altos niveles de diversidad genética en riqueza alélica y heterocigosidad, bajos niveles de endogamia y flujo génico, la población estructurada en 3 grupos de las cuales una, pero una pequeña población aislada.

Sunny *et al.*, (2014b) realizaron un estudio de genética de paisaje con *Ambystoma leorae*, donde identifican tres subpoblaciones estructuradas y ligeras barreras al flujo entre subpoblaciones, estableciendo una correlación positiva entre las características del microhábitat. Las estimaciones del flujo génico bidireccional son consistentes con el patrón de un modelo de escalón entre subpoblaciones, donde la migración ocurre entre subpoblaciones adyacentes, pero hay bajo flujo génico entre subpoblaciones distantes.

Heredia-Bobadilla *et al.* (2016) en la Sierra Volcánica Transmexicana con una población aislada *Ambystoma rivulare* reveló evidencia de un cuello de botella genético ancestral, bajo tamaño poblacional efectivo, pequeños coeficientes endogamia y bajo flujo génico.

Heredia-Bobadilla *et al.* (2017) en estudio de variabilidad y estructura genética en una población aislada de *Ambystoma altamirani*, en la localidad de Tlazala, Estado de México, encontró estructura genética en dos poblaciones, altos niveles de variabilidad genética igualmente reflejados en heterocigosidades mayores a 0.6, un pequeño tamaño poblacional, la presencia de cuellos de botella históricos y recientes, así como un coeficiente significativo de endogamia.

Monroy-Vilchis *et al.* (2019) comparo entre *Ambystoma rivulare* y *A. altamirani* muestreando dos poblaciones de cada especie encontró niveles medios a altos de diversidad genética, evidencia de un cuello de botella genético, un pequeño tamaño poblacional efectivo, y una fuerte estructura genética entre las poblaciones de cada especie. Esta información fue considerada para evaluar riesgos mediante, el uso de información genética poblacional de *A. altamirani* y *A. rivulare* y *A. leorae* y proponer estrategias de conservación (Heredia-Bobadilla, y Sunny. 2021).

1.3.3 Problemática

De las 18 especies mexicanas de ajolotes, 15 se encuentran protegidas por la legislación y normatividad mexicanas en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010), entre ellas *Ambystoma altamirani* está presente como amenazada y también se encuentra catalogada en la Lista Roja de la IUCN, 2022 como en peligro de extinción (UICN, 2022).

Particularmente para esta especie se han reconocido al menos cuatro factores que han puesto en riesgo y la variabilidad de sus poblaciones: i) deforestación, ii) introducción de especies exóticas, iii) presencia de patógenos, y iv) crecimiento poblacional humano (Heredia-Bobadilla y Sunny, 2021).

El problema de la deforestación es que afecta significativamente las zonas boscosas donde habita *Ambystoma altamirani* dentro de montañas de la Faja

Volcánica Transmexicana, donde los bosques se han perdido asociado al cambio de uso de suelo (principalmente por zonas agrícolas y la extracción de madera legal e ilegal) cerca de 2682.69 km² de cobertura boscosa entre el 2011 y 2014, inclusive esta tasa de transformación ha afectado al área natural protegida, Parque Nacional Miguel Hidalgo (Heredia-Bobadilla y Sunny, 2021).

Por otra parte, la introducción de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en las zonas de distribución de *A. altamirani* ha impactado sus poblaciones, ya que esta especie de pez invasor compite por el alimento, territorios o refugios con los ajolotes adultos, además de que las truchas pueden depredar a sus huevos y crías (Guerrero de la Paz, 2018; Guerrero de la Paz, *et al.*, 2020; Heredia-Bobadilla y Sunny, 2021).

La infección por patógenos, específicamente por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) que causa la quitridiomycosis una enfermedad que ha ocasionado el declive poblacional de muchas especies de anfibios (Basanta *et al.*, 2022). Particularmente siendo la región de Mesoamérica una de las más afectadas (Scheele *et al.*, 2019). En México se ha confirmado la presencia de este patógeno en poblaciones de varias especies del género *Ambystoma* poniendo en riesgo a sus poblaciones (Basanta *et al.*, 2019),

Particularmente en *A. altamirani* se han observado individuos infectados en varias localidades del Estado de México (Basanta *et al.*, 2022). y aunque no hay evidencia de que la infección por *Bd* altere el microbiota en *A. altamirani*, (Martínez-Ugalde *et al.*, 2002), la prevalencia del *Bd* se ve influenciado por la etapa de vida, la estacionalidad y otros factores ambientales (Basanta *et al.*, 2022).

Finalmente, la distribución de *A. altamirani* abarca estados que presentan un crecimiento poblacional humano muy alto, como es la región centro del país, y por lo tanto, hay un alza en el crecimiento urbano y en demanda de recursos, teniendo implicaciones severas sobre las poblaciones de este ajolote (Heredia-Bobadilla y Sunny, 2021), por lo que ha sugerido que el crecimiento de la mancha urbana de la Ciudad de México amenaza las poblaciones y la continua pérdida de sus áreas naturales (Woolrich-Piña *et al.*, 2017).

Además, las áreas naturales protegidas donde se distribuye *A. altamirani*, también se ven afectadas, por la existencia asentamientos humanos rurales con niveles significativos de pobreza, que sobreviven del aprovechamiento de los recursos forestales y de la transformación de zonas arbóreas para agricultura, pastoreo, e incluso extracción de suelo (Arriola-Padilla *et al.*, 2014).

Estas amenazas se han considerado complementados de la información genética sobre la baja diversidad, endogamia y cuellos de botella en *A. altamirani* y *A. rivulare* y *A. leorae* para considerar que estas especies necesitan acciones más urgentes de conservación (Heredia-Bobadilla, y Sunny 2021).

1.4 Justificación

Siendo que es una prioridad la conservación de la diversidad genética de las especies en peligro de extinción (Frankham *et al.*, 2010), a pesar de que la especie la especie *Ambystoma altamirani* se encuentra listada en la NOM-059 (SEMARNAT, 2010) después de un tiempo en el que a no se le había prestado demasiada atención en la toma de medidas de conservación (Parra-Olea *et al.*, 2012) poco a poco se ha visto un el creciente interés por la especie. Producto de esto que los estudios genéticos de algunas poblaciones han servido para demostrar que la especie se encuentra en riesgo y fundamentar estrategias de conservación particulares para esta especie (Heredia-Bobadilla y Sunny, 2021).

Estrategias que se han estado enfocando en la conectividad entre poblaciones, por lo que siendo relevante conocer si existe intercambio de genes entre las distintas poblaciones de la especie y conocer los niveles de diversidad genética de cada una, el presente trabajo contribuye al conocimiento genético de *Ambystoma altamirani* que ayudara a estrategias de conservación en todo su rango de distribución junto con los trabajos previos, pero de manera particular en las poblaciones presentes en tres localidades de la alcaldía Magdalena Contreras, para futuras estrategias de preservación de esta especie endémica.

1.5 Preguntas de investigación e Hipótesis

1.5.1 Preguntas de investigación

- ¿Qué niveles de diversidad y estructura genética se encontrarán en las poblaciones de *Ambystoma altamirani* presentes en la Alcaldía Magdalena Contreras, Ciudad de México?
- ¿Existe estructura genética poblacional entre las localidades donde se encuentra *A. altamirani* en la Alcaldía Magdalena Contreras, Ciudad de México?

1.5.2 Hipótesis

De acuerdo con lo reportado por otros trabajos con la especie y especies relacionadas del género *Ambystoma* se esperan bajos niveles de diversidad genética, debido a procesos y factores como bajo flujo génico, endogamia o cuellos de botella.

Además, de acuerdo con la baja vagilidad, la historia de vida de *Ambystoma altamirani*, así como a la compleja fisiografía de la Faja Volcánica Transmexicana particular en la alcaldía Magdalena Contreras, se esperan valores bajos de diversidad genética, una alta estructuración genética poblacional, por lo tanto, que la población de *Ambystoma altamirani* se encuentre genéticamente diferenciada entre localidades.

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo general

Analizar la diversidad y estructura genética de la población de *Ambystoma altamirani* presente en la alcaldía Magdalena Contreras en la Ciudad de México e identificar algunos factores ecológicos o ambientales que expliquen la diferenciación entre localidades de la Alcaldía Magdalena Contreras que permitan proponer estrategias de conservación de sus poblaciones.

1.6.2 Objetivos particulares

- Obtener información genética de ocho regiones de microsatélites de individuos provenientes de tres localidades de *Ambystoma altamirani* en la Ciudad de México para estimar parámetros poblacionales.
- Estimar la riqueza de alelos compartidos y únicos entre las localidades de colecta para determinar los valores de diversidad genética.
- Estimar los niveles de diferenciación genética entre localidades para inferir la estructura genética entre las localidades e inferir barreras ecológicas al flujo.
- Proponer unidades de conservación, que permitan tomarse como referente en estrategias de conservación para las localidades particulares.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio

El muestro se realizó en tres localidades dentro de la demarcación territorial de la alcaldía Magdalena Contreras, Ciudad de México (Tabla 1, figura 8) dentro de la cuenca del Río Moctezuma (INEGI, 2010, Gómez-López *et al.*, 2011) a una distancia no mayor a 5 km entre cada punto muestreado.

Tabla 1. Individuos por localidades de Muestreo. En la Alcaldía Magdalena Contreras, CDMX

Localidad	Coordenadas	Individuos colectados
Monte Alegre/Las Regaderas (MA)	19.23249N, -99.29641W, 3453 msnm	30
Potrero (Po)	19.262544N, -99.279244W, 3145 msnm	11
Alta Tensión (TE)	19.237414N, 99.317668W, 3603 msnm	8

En la alcaldía Magdalena Contreras geomorfológicamente existen elevaciones importantes con cerros que van desde los 2,350 metros sobre el nivel del mar (cerro El Aguajito), hasta 3,789 msnm (cerro Palmas). El río Magdalena nace del cerro Palmas, siendo alimentado por numerosos manantiales y afluentes, entre los que destacan el río Eslava, el Tepapatlapa y el Potrero (Gómez-López *et al.*, 2011).

La cubierta vegetal del municipio esta compuestas por plantas arbustivas y arborescentes, en su mayoría caducifolios como leguminosas y algunas cactáceas, y los tipos principales de vegetación consisten principalmente en Bosque de Coníferas y Bosque Mesófilo de Montaña, destacando principalmente el género: *Pinus sp.* Y *Quercus sp.* (Galeana-Pizaña, *et al.*, 2009).

En las barrancas de los lomeríos, existe vegetación rarápica, constituidos por *Alnus jorullensis* (aile), *Salix bonpladiana* (sauce), *Fraxinus uhdei* (fresno), *Dudley cordata* (tepozán), *Pronus capuli* (capulín) y *Taxodium mucronatum* (ahuehuete). A estas comunidades de lomeríos le siguen, en orden altitudinal progresivo, las diversas especies de coníferas como encino (*Quercus sp.*), pino manzanita (*Pinus leiophylla*), cedro (*Cedrus sp.*), etc. (Galeana-Pizaña, *et al.*, 2009).

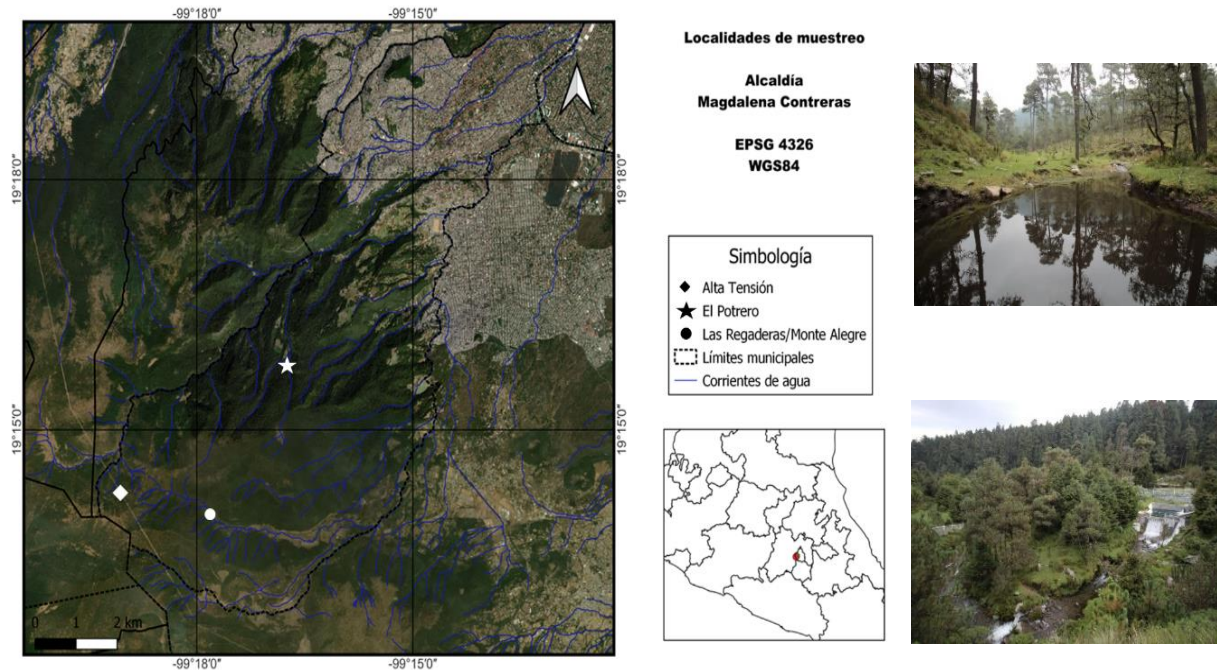


Figura 8. Localidades de muestreo en la Alcaldía Magdalena Contreras en la CDMX. Las Regaderas (MA), Potrero (PO), y Alta Tensión (TE). A) Mapa elaborado en QGIS v3.26.3; B) Fotografías de los puntos de estudio, cortesía de Biol. Rafael Alejandro Calzada-Arciniega

2.2 Trabajo de Campo y laboratorio

Se trabajó con los datos de información genética de 49 muestras colectadas en tres puntos de la alcaldía Magdalena Contreras (Tabla 1), extraídas de tejido de *Ambystoma altamirani* (Figura 9), y amplificadas mediante PCR multiplex. Se amplificaron ocho regiones (*loci*) de microsatélite de ADN nuclear desarrollados para el género *Ambystoma* por Parra-Olea, *et al.* (2007): At52.143, At52.115, At52.1, At60.3, At52.2, At52.20, At52.6 y At52.34 (Figura 10), provenientes del Laboratorio de Diagnóstico Molecular de la Comisión de Recursos Naturales y Desarrollo Rural (CORENADR) y facilitados por la Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México previamente colectados para la elaboración de este trabajo de acuerdo a la carta de envío de datos (Apéndice I).



Figura 9. Trabajo de campo y colecta de tejido. Fotografías cortesía de Biol. Rafael Alejandro Calzada-Arciniega



Figura 10. Procedimiento. El Trabajo de Campo y laboratorio fue realizado previamente antes de la facilitación de datos, en azul oscuro los pasos realizados en este trabajo.

La genotipificación se llevó a cabo con la información recabada para cada individuo y cada *loci*, detectando artefactos en los electroferogramas (contaminación) de manera visual y capturados en un archivo en formato GENEPOP.txt (Apéndice II), reconvirtiendo posteriormente, a partir de dicho archivo, el formato para cada análisis posterior mediante el software CREATE (Coombs *et al.*, 2008). La detección de alelos nulos se llevó a cabo con el programa MicroChecker (Van-Oosterhout *et al.*, 2004), los *loci* con alelos nulos se desecharon del análisis debido a que no producen una señal detectable en la genotipificación (homoplasias) y pueden alterar la medición de la diversidad genética (Selkoe, *et al.*, 2006).

2.3 Diversidad genética

La diversidad genética es el grado de variación genética en una población o especie, o a través de un grupo de especies (Vizmanos-Pérez, 2014).

A partir de la información genética obtenida, esta se estimó midiendo la variación alélica y los niveles de heterocigosidad; mediante los índices de riqueza alélica (AR), el cual es una medida de diversidad alélica estandarizada a un tamaño de muestra particular (Frankham *et al.*, 2010) y se calcula estimando el número esperado de alelos en una sub-muestra y se utilizan métodos de rarefacción para poder hacer comparaciones entre muestras (Goudet, 2002); la riqueza alélica exclusiva (PAR) que son alelos de un *locus* encontrado exclusivamente en una población (Frankham *et al.*, 2017).

La heterocigosidad es la porción de individuos que son heterocigotos para un *locus*, siendo opuesto a la homocigosidad. La heterocigosidad observada (H_o) es la porción de Individuos heterocigotos encontrados en la población, mientras que la heterocigosidad esperada (H_E) son los genotipos heterocigotos esperados para una población de apareamiento aleatorio con las frecuencias alélicas dadas según el equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) (Cutter, 2019).

La comparación estadística las frecuencias genotípicas observadas (H_o) y esperadas (H_E) estadísticamente permite saber si una población está en HWE para un *locus* particular (Vizmanos-Pérez, 2014). Debido a esto, es posible identificar

factores como la endogamia o los cuellos de botella si se encuentra una baja heterocigosidad o un exceso de heterocigosidad respectivamente (Hamilton, 2009).

Debido a que la riqueza alélica (AR) y la riqueza alélica exclusiva (PAR) se ven afectados por el tamaño de muestra, se utilizó el método de rarefacción al no obtener el mismo tamaño de muestras en las localidades con el programa ADZE 1.0 (Szpiec *et al.*, 2008). Los parámetros genéticos poblacionales básicos como el Número total de alelos (N_T); de *loci* polimórficos (P_L) la Heterocigosidad esperada (H_E), observada (H_O) y total (H_T), la Endogamia (F_{IS}), y la prueba de equilibrio de Hardy Weinberg (HWE) para cada *locus* y localidad de muestreo se evaluaron con el programa ARLEQUIN 3.0 usando cadenas de Markov (Excoffier *et al.*, 2005).

2.4 Cuello de Botella

Con el programa BOTTLENECK1.2 se infirió la existencia de cuellos de botella basados en las diferencias significativas entre la H_e y H_o bajo el supuesto de dos modelos de mutación (modelo de alelos infinitos y de mutación por pasos) (Piry, Luikart y Cornuet, 1999). Adicionalmente usando el software ARLEQUIN v. 3.1 (Excoffier, *et al.*, 2005) se infirió la existencia de cuellos de botella mediante el índice de Garza-Williamson para microsatélites en el que se determina relación media entre el número de alelos y el rango de tamaño de los alelos el cual al ser cercanos a uno indican la estabilidad de la población, mientras que valores cercanos a cero indican que la población pasó por cuellos de botella (Garza y Williamson, 2001).

El tamaño poblacional efectivo reciente se calculó utilizando NEESTIMATORv2.1 (Do, *et al.*, 2014) usando el modelo de desequilibrio de ligamiento, y además mediante flujo génico histórico obtenido por MIGRATE v3.0 (Beerli, 2009) se estimó theta (Θ) como parámetro de tasa de mutación escalado de la población: $\Theta = xNe \mu$ donde $x=4$ en especies diploides (Watterson, 1975; Beerli 2009; Saetre y Ravinet, Beerli *et al.*, 2019). Como referente se utilizó la tasa de mutación 1.27×10^{-3} de microsatélites estimados para *Ambystoma tigrinum* (Bulut *et al.*, 2008) para inferir los tamaños efectivos y número de migrantes efectivos a partir del estimador Θ (Percino-Daniel R., 2008).

2.5 Estructura genética

La estructura genética, es la disposición no aleatoria de la diversidad genética entre las poblaciones, ocurriendo en una o más subpoblaciones. (Cutter, 2019).

Se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) con 10,000 permutaciones en el programa ARLEQUIN v. 3.1 (Excoffier, *et al.*, 2005), el cual se basa en un análisis de varianza de frecuencias de genes. En este análisis podemos definir grupos de poblaciones los cuales van a definir la manera en cómo se evaluará la estructura genética ya que la varianza total se va dividir en componentes de covarianza debido a diferencias intraindividuales, interindividuales y/o diferencias interpoblacionales (Huang, *et al.*, 2020).

Además, esos componentes de covarianza son usados para calcular los índices de fijación F_{IT} , F_{IS} y F_{ST} , los cuales miden el aumento o reducción de heterocigosidad respecto a la esperable en condiciones de Equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) (Hedrick, 2005, Cutter, 2019; Huang, *et al.*, 2020).

Estos índices se basan en la teoría clásica de genética poblacional de probabilidad de identidad por descendencia del índice F de fijación (Wright, 1965), el cual indica el exceso de homocigosidad hay en una población, comprando la heterocigosidad esperada (H_E) con la observada (H_O) (Hedrick, 2005; Cutter, 2019). Si el índice toma un valor de cero indicaría lo que se esperaría en condiciones de HWE (Cutter, 2019, Saetre y Ravinet, 2019).

Cuando el índice F de Fijación se extiende a múltiples subpoblaciones (F_{IS}), este resume la cantidad de apareamiento no aleatorio que ocurre dentro de cada subpoblación, comparando la heterocigosidad esperada y observada media entre las subpoblaciones y sirve como una medida de endogamia subpoblacional (Excoffier *et al.*, 2005, Cutter, 2019; Saetre y Ravinet, 2019).

Mientras que, el índice F_{IT} , también conocido como el coeficiente de endogamia general, es indicador de si dos alelos en un locus son idénticos por descendencia con respecto a la población entera, y cuando los valores son cercanos

a uno indica que existe una desviación general del HWE (Wright, 1965; Cutter, 2019; Huang, *et al.*, 2020).

Particularmente el estimador F_{ST} , (o sus variantes G_{ST} , R_{ST}) mide la fracción de la variación genética global debida a diferencias entre poblaciones que depende del flujo génico debido al intercambio de material genético entre individuos de diferentes subpoblaciones a través de la migración (Hedrick, 2005; Cutter, 2019).

Por lo que el índice F de fijación representa fenómenos de apareamiento aleatorio en diferente contexto: F_{IT} mide la fijación individuo-población total, existiendo una desviación general del HWE con valores cercanos a uno; F_{IS} es la fijación individuo-subpoblación, donde valores cercanos a uno indican endogamia en la subpoblación; y F_{ST} es la fijación subpoblacional con respecto al total, donde valores cercanos a uno indican la existencia de diferenciación genética entre subpoblaciones (Wright, 1965; Excoffier *et al.*, 2005; Hedrick, 2005; Cutter, 2019). La estimación del índice F de fijación se realizó con el programa ARLEQUIN 3.0 (Excoffier *et al.*, 2005) con 10,000 permutaciones.

Para inferir el número de grupos genéticos (K) en la información genotípica se empleó el método de agrupamiento Bayesiano con el programa STRUCTURE 2.3.1 (Evanno *et al.*, 2005), Este método utiliza cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) para inferir el número de poblaciones de origen de los individuos colectados y las frecuencias alélicas en todas las poblaciones con base en las posibilidades a posteriori. (Evanno *et al.*, 2005).

En este análisis las simulaciones se llevaron a cabo bajo un modelo de mezcla y frecuencias alélicas correlacionadas entre poblaciones sin ninguna información previa. Las MCMC consistieron en 1×10^6 pasos con un burn-in de 500,000 pasos. Se probaron valores de K de 2 a 10 con 100 iteraciones para cada valor con el fin de determinar el valor máximo de la probabilidad posterior $[\ln P(D)]$. El valor más probable de K se determinó usando el valor máximo de ΔK según Evanno *et al.*, (2005) implementando en el programa Structure Harvester v. 0.6.94. (Earl y VonHoldt, 2012). Finalmente, por medio de CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson y Rosenberg, 2007) se estimó los coeficientes de pertenencia al grupo (Q) usando el

algoritmo LargeKGredy con 1000 órdenes de entrada aleatorias. Estos valores se visualizaron utilizando diagramas de barras con el software DISTRUCT (Rosenberg, 2004).

2.6 Barreras al Flujo Génico

Se estimaron los niveles de flujo génico entre las localidades con el programa MIGRATE v3.0 (Beerli, 2009), asumiendo tasa de mutación (μ) constante bajo el modelo Browniano de microsatélites, el cual describe la deriva genética aleatoria de una población a lo largo del tiempo, suponiendo que el cambio en la frecuencia alélica es proporcional a la raíz cuadrada del tiempo y que el cambio es aleatorio e independiente de la frecuencia inicial (Beerli, 2009); con el criterio de máxima verisimilitud, como método estadístico que se utiliza para estimar los parámetros de un modelo que mejor se ajustan a los datos observados de parámetros de un modelo coalescente (Beerli, *et al.*, 2019; Saetre y Ravinet, 2019).

También se calculó Θ como parámetro de tasa de mutación escalado de la población: $\Theta = xNe \mu$ donde $x=4$ en especies diploides (Watterson, 1975; Beerli 2009; Saetre y Ravinet, Beerli *et al.*, 2019)

Para calcular migrantes efectivos (Ne^*m) y tamaños efectivos (Ne), se utilizó como referente la tasa de mutación 1.27×10^{-3} de microsatélites estimados para *Ambystoma tigrinum* (Bulut *et al.*, 2008) a partir del estimador Θ (Percino-Daniel R., 2008).

Para visualizar las posibles discontinuidades genéticas entre las localidades de la población de *Ambystoma altamirani*, se utilizó el algoritmo de máxima diferencia de Monmonier del programa BARRIER v2.2 (Manni *et al.*, 2004). Este programa nos permite detectar rupturas genéticas entre muestras tomando en cuenta la posición geográfica de cada sitio (Patten y Smith-Patten, 2008).

El programa genera una triangulación de Delaunay a partir de las coordenadas geográficas de los sitios, donde las barreras para cada conexión se calculan utilizando el algoritmo de máxima diferencia de Monmonier con base a los valores máximos de matrices de distancias genéticas pareadas con distancias geográficas,

donde la robustez de las barreras se evalúa mediante un análisis de bootstrap con base en la generación de 100 matrices construidas al azar con los datos (Patten y Smith-Patten, 2008).

La matriz de distancia genética de Nei se construyó utilizando el programa MSA (Dieringer y Schlötterer, 2003), mientras que las distancias geográficas se obtuvieron mediante Google Earth Pro v7.3.6 (Google, 2022) y QGIS v3.26.3 (QGIS Association, 2022). Conjuntamente se construyó un modelo de elevación con el cual se identificaron patrones geográficos de las posibles discontinuidades genéticas dadas por las diferencias en altitud entre las localidades encontradas por el programa Barrier 2.0, complementando con datos vectoriales hidrográficos de la subcuenca RH26Dp (INEGI, 2010).

Finalmente, se evaluó la existencia de una correlación entre la distancia genética y las distancias geográficas entre localidades mediante el programa IBDv1.52 (Bohonak, 2002). La existencia de esta correlación indica que el flujo genético es limitado y localizado, de tal forma que poblaciones más cercanas geográficamente experimentan un flujo génico más intenso que entre poblaciones más lejanas espacialmente (Wright, 1943).

3 RESULTADOS

Se amplificó, y secuenció ADN extraído de tejido de 49 individuos de *Ambystoma altamirani* para ocho *loci* de microsatélite, de los cuales se detectaron cuatro *loci* con alelos nulos a un intervalo de confianza del 95%, tres *loci* en la localidad Las Regaderas, (AT52.115, AT52.20 y AT60.3) y un *locus* (AT52.1) en Potrero (Tabla 2).

Tabla 2. Condiciones de PCR y nombre del locus con secuencia de los ocho *loci* de microsatélite. Con motivo de repetición, secuencia de primers, temperatura de alineamiento (Ta) y tamaños alélicos (pb). En negritas los *loci* sin alelos nulos utilizados

Locus	Motivo	Secuencias 5'-3'	Ta (°C)	Tamaño (pb)
<i>At52.1</i>	(GA) ₁₅ GT(GA) ₂ GTGAGT(GA) ₂₇	F: GACACCCACAATGCATTCTACACC R: GCTCTGGCCTTACCCTGCTATCC	60	381-465
<i>Atig52.115</i>	(TC) ₁₅	F: AGCACAAGTTCTGAACCTTTCAC R: CCGATCACTCGGGTTACTGT	59	223-297
<i>At52.143</i>	(TC) ₉ GCTCAC(TC) ₈ AC(TC) ₃ TT(TC) ₅ TA(TC) ₇	F: TCAGGCATCAGATTTCGTTGTTA R: TGTTTGTCGGATTCGTTGTG	57	309-359
<i>At52.2</i>	(GATT) ₈	F: GGGGAGAGCCAGCCACAGAGTAT R: CCCTTTGCCACAGTTAATTGCTTTTT	60	221-269
<i>At52.20</i>	(TC) ₁₇	F: TTCCTCTCCCACTTCTCGTTCTGTATT R: TTTTCGAGGGTAAGGGTCTATTGATTC	54	267-341
<i>At52.34</i>	(AG) ₄ AA(AG) ₂₁	F: TGTACAGACAGGCAAGAGGTATTGACAGT R: GTCTCCCACTTTAATTCCTCAGTTTTT	64	373-457
<i>At52.6</i>	(ATGT) ₃ (ATCT)(ATGT) ₅	F: TTAATCAATATCAGACTCCCCAAATGT R: CCTATCCCTTCCCCAGCACTCC	58	151-163
<i>At60.3</i>	(AG) ₃₀ (TG) ₁₃ (AG) ₁ (TG) ₂₅	F: TTTGCCAATGTTTACCTGCCTGAAT R: TGAGTCATGCCTTTCCTGGTGTA	62	216-297

3.1 Diversidad genética

De los ocho *loci* secuenciados, únicamente cuatro fueron útiles para los análisis de este trabajo, debido a que los otros cuatro *loci* mostraron alelos nulos (AT52.115, AT52.20, AT60.3 y AT52.1). Se determinó la diversidad genética por *locus*, encontrándose un intervalo de dos a siete en el número total de alelos, siendo el *locus* At52.2 con más alelos por población en la localidad las Regaderas, mientras para Potrero como Alta Tensión fue el *locus* At52.34.

Se encontraron heterocigosidades tanto esperadas como observadas que variaron de 0.3 a 0.96, siendo significativos ($p < 0.05$) a los *loci* At52.2 y At52.34 en las Regaderas, y el *locus* At52.34 en Potrero en equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 3).

Tabla 3. Estimaciones de diversidad genética por *locus*.

N_T = Número total de alelos; H_o = Heterocigosidad observada; H_E = Heterocigosidad esperada, HWE= Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (p-value) * significativo ($p < 0.05$); m = Promedio; sd= Desviación estándar.

<i>Locus</i>	Las Regaderas				Potrero				Alta Tensión			
	N_T	H_o	H_E	HWE	N_T	H_o	H_E	HWE	N_T	H_o	H_E	HWE
At52.143	3	0.310	0.406	0.177	3	0.182	0.177	1	-	-	-	-
At52.2	7	0.566	0.664	0.007*	2	0.364	0.416	1	2	0.625	0.458	0.488
At52.34	4	0.962	0.66	0*	5	0.909	0.753	0.004*	3	0.75	0.567	0.699
At52.6	2	0.3	0.306	1	2	0.272	0.368	0.438	-	-	-	-
m	4	0.535	0.509		3	0.432	0.429		1.75	0.344	0.256	
sd	1.871	0.269	0.158		1.225	0.283	0.208		0.829	0.347	0.259	

La diversidad genética total de las tres localidades estudiadas de *Ambystoma altamirani* fue de 1.406 ± 0.139 de riqueza alélica (AR), una riqueza alélica exclusiva media (PAR) de 0.383 ± 0.136 , un número total de alelos (N_T) medio de 16 ± 11.3 alelos, y una heterocigosidad total (H_T) de 0.575 ± 0.089 . Se mostraron heterocigosidades cercanas a 0.5 tanto esperadas como observadas con valores de la H_o que variaron entre 0.344 a 0.535, con una media de 0.437, mientras que la H_E obtuvo valores de 0.256 a 0.509 a, con una media de 0.398 (Tabla 4).

Los valores más altos de diversidad genética fueron encontrados para la localidad de Las Regaderas (AR= 1.532 ± 0.096 , PAR= 0.427 ± 0.137 , N_T = 16, H_E = 0.509 ± 0.158 , H_o = 0.535 ± 0.269), mientras que la localidad con menor diversidad

genética fue Alta Tensión ($AR= 1.256 \pm 0.149$, $PAR= 0.231 \pm 0.078$, $N_T= 5$, $H_E= 0.256 \pm 0.259$, $H_O= 0.343 \pm 0.347$), siendo Potrero la localidad con valores medios de diversidad, aunque se destacó por tener el valor más alto de riqueza alélica exclusiva ($AR= 1.429 \pm 0.119$, $PAR= 0.231 \pm 0.078$, $N_T= 12$, $H_E= 0.429 \pm 0.208$, $H_O= 0.432 \pm 0.283$). El índice de endogamia fue bajo, con valores cercaos a 0.1, excepto para la localidad Alta Tensión, sin embargo, no fue significativa, (Tabla 4).

Tabla 4. Estimaciones de diversidad genética por localidad.

N= Tamaño muestral (individuos); N_T = Número total de alelos; P_L = *loci* polimórficos; AR= Riqueza alélica; PAR= Riqueza alélica efectiva, H_O = Heterocigosidad observada; H_E = Heterocigosidad esperada, H_T = Heterocigosidad Total, F_{IS} = Endogamia, (p-value), m = Promedio; sd = Desviación estándar

Localidad	N	N_T	P_L	AR	sd	PAR	sd	H_O	sd	H_E	sd	H_T	F_{IS}	p
Las Regaderas	30	16	4	1.532	0.096	0.427	0.137	0.535	0.269	0.509	0.158		0.137	0.065
Potrero	11	12	4	1.429	0.119	0.493	0.206	0.432	0.283	0.429	0.208		0.155	0.329
Alta Tensión	8	5	2	1.256	0.149	0.231	0.078	0.343	0.347	0.256	0.259		-0.4	1
m	16.333	11	3.333	1.406		0.383						0.575		
sd	11.930	5.567	1.154	0.139		0.136						0.089		

3.2 Cuello de Botella

Mediante diferencias entre H_O y H_E bajo el supuesto de dos modelos de mutación (alelos infinitos AIM y de mutación por pasos SMM) BOTTLENECKv1.2 no detectó cuellos de botella recientes ($p>0.05$) (Tabla 8), sin embargo, requiere de al menos cuatro *loci* polimórficos, condición que apenas cumple, menos en la localidad de Alta Tensión, donde se observa una tendencia hacia un exceso de heterocigosidad (Tablas 3, 4 y 5).

Por su parte, el índice para microsatélites de Garza-Williamson infirió la existencia de cuello de botella debido a sus valores cercanos a cero (0.37886 ± 0.21891). Aunque la localidad de Alta Tensión tiene un índice mayor debido a que sólo cuenta con dos *loci* polimórficos (Tablas 3 y 5).

Tabla 5. Cuello de Botella. P= significancia (0.05), IAM= Modelo de alelos infinitos, SMM= Modelo de Mutación por pasos, LEH_E = *Loci* con exceso de heterocigosidad esperada, LDH= *Loci* con deficiencia de heterocigosidad, LEE= *Loci* con exceso de heterocigosidad, GWI= Índice de Garza-Williamson

Modelo	P		LEH _E		LDH		LEH		GWI
	IAM	SMM	IAM	SMM	IAM	SMM	IAM	SMM	
Las Regaderas	0.35944	0.58325	2.12	2.26	1	2	3	2	0.235 ± 0.121
Potrero	0.31786	0.43310	2.00	2.30	1	1	3	3	0.289 ± 0.130
Alta Tensión	0.29706	0.30614	1.10	1.11	0	0	2	2	0.613 ± 0.406
Media	---	---	---	---	---	---	---	---	0.379 ± 0.218

El tamaño efectivo poblacional calculado con NEESTIMATORv2.1 con el método de desequilibrio de ligamiento y con un Intervalo de confianza IC del 95% fue de 226.6 con IC= 9.9 para la localidad de Las Regaderas. En la localidad de Potrero fue de 11.0 con IC= 1.7 y de la localidad de Alta tensión fue 6.6 con IC= 0; los tamaños poblacionales a partir del flujo histórico se calcularon en MIGRATEv3.0 usando los parámetros poblacionales de Θ en la tabla 8.

3.3 Estructura genética

Los índices de fijación resultado del Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) de manera general fueron altos y significativos, salvo por la endogamia media entre localidades $F_{IS} = 0.112$ la cual fue baja y no significativa, mientras que por su parte desviación del HWE, F_{IT} tuvo un valor de 0.501 y la diferenciación media F_{ST} mostró un valor de 0.43850 (Tabla 6).

Tabla 6. Índices F de estructura poblacional. F_{STp} = Diferenciación pareada, F_{STm} = Diferenciación media, F_{IS} = endogamia subpoblacional, F_{IT} = desviación del HW, significancia: *($p < 0.01$), **($p < 0.001$)

Diferenciación (F_{STp})	Las Regaderas	Potrero	Alta Tensión
Las Regaderas	0	---	---
Potrero	*0.393	0	---
Alta Tensión	*0.384	*0.680	0
Fijación media			
	$F_{STm} : 0.439^{**}$	$F_{IS} : 0.112$	$F_{IT} : 0.501^{**}$

La diferenciación genética pareada fue significativa entre las localidades, y mostró valores de 0.384 a 0.680, donde los valores más bajos de diferenciación genética fueron entre localidades geográficamente cercanas (Regaderas y Alta Tensión), mientras que la localidad de Alta Tensión mostro mayor diferencia genética con la localidad de Potrero (Tabla 6).

El AMOVA indicó que la mayor proporción de variación se encontró dentro de los individuos con un 49.87% y entre poblaciones con un 43.85%, mientras que la menor variación fue entre los individuos dentro de las localidades (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis de Varianza Molecular. Mayor variación dentro de individuos y entre poblaciones

Fuente de Variación	d.f.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de Variación
Entre poblaciones	2	24.868	0.43966 Va	43.85
Entre individuos dentro de las poblaciones	46	28.795	0.06299 Vb	6.28
Dentro de los individuos	49	24.500	0.50000 Vc	49.87
Total	97	78.163	1.00265	100

Los resultados obtenidos del análisis en el programa STRUCTURE indico que el número efectivo de grupos genéticos fue de K=3, los cuales correspondieron a cada una de las tres localidades analizadas.

Los bar-plots generados por el programa muestran tres grupos genéticos representados por el color azul, rojo y verde. Cada color indica la fracción de pertenencia de los 49 individuos a uno de los grupos genéticos estimados (Figura 11).

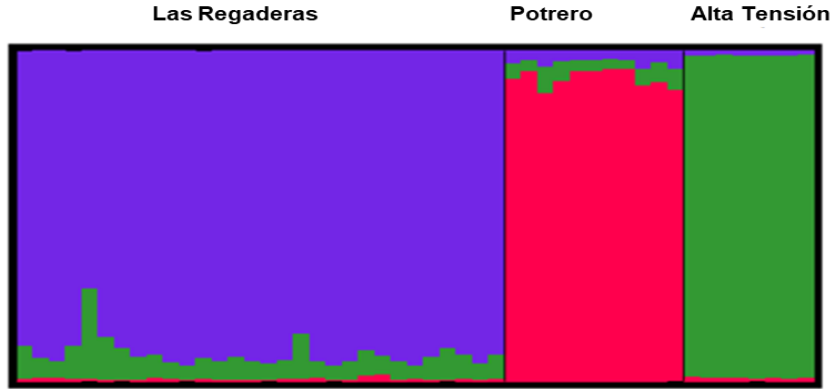


Figura 11. Grupos genéticos identificados mediante el análisis de estructura. Cada individuo es representado por una barra vertical con segmentos coloreados en proporción a su pertenencia al grupo genético. Las líneas oscuras separan las poblaciones de cada localidad

3.4 Barreras al Flujo Génico e identificación patrones ecológicos

Los niveles de flujo genético entre las localidades estimados con el programa MIGRATE, con un intervalo de confianza IC del 95%, los cuales mostraron valores bajos, moderados y altos ($M = 1.389-22.245$) encontrando un mayor flujo genético entre las localidades de Las Regaderas y Alta Tensión que también son geográficamente más cercanas entre sí (Tabla 8, Figura 12).

A partir del estimador Θ se infirieron migrantes efectivos, de modo que los niveles de flujo genético se ven reflejados hasta en seis migrantes efectivos por generación, donde ocurre el mayor flujo y de $0.33 N_e m$ entre las localidades de Potrero y las Regaderas.

Tabla 8. Niveles de Flujo genético (Θ = Estimador de Wu-Watterson [$4N_e\mu$]; μ = tasa de mutación constante; m = tasa de migración; N_e = Tamaño efectivo poblacional; + = Población receptora, ** = Mayor flujo genético, * = menor flujo genético, IC = Intervalo de Confianza al 95%)

Población	Θ [$4N_e\mu$]	N_e	M [m/μ]			Migración Estimada [$N_e m = \Theta M/4$]		
			Las Regaderas+	Potrero+	Alta Tensión+	Las Regaderas+	Potrero+	Alta Tensión+
Las Regaderas (IC)	1.1437 (1.0075-1.3093)	225.14 (198.33-257.74)	---	1.3886 (1.0117-1.8140)	22.2447 (20.7951-23.7575)	---	0.39 (0.25-0.59)	**6.36 (5.24-7.78)
Potrero (IC)	0.3787 (0.3194-0.4545)	74.55 (62.87-89.47)	3.5078 (2.7419-4.4076)	---	10.8299 (9.432-12.3787)	*0.33 (0.22-0.5)	---	1.03 (0.75-1.4)
Alta Tensión (IC)	0.9393 (0.7907-1.1251)	184.9 (155.65-221.48)	21.292 (19.8254-22.8341)	6.4658 (5.6793-7.3362)	---	5 (3.92-6.42)	1.52 (1.12-2.06)	---

El análisis en BARRIER detectó dos barreras al flujo génico (Figura 12) a partir de matrices de distancias genéticas (Nei) y geográficas (Km), se sugiere aislamiento genético por distancia (logMantel Test $r=0.9432$, $p \leq 0.0010$, IBDv1.5), además en las distancias lineales que conectan las localidades estudiadas se encontraron varios picos de altitud mayor a 3600 msnm en su topografía (Figura 13).

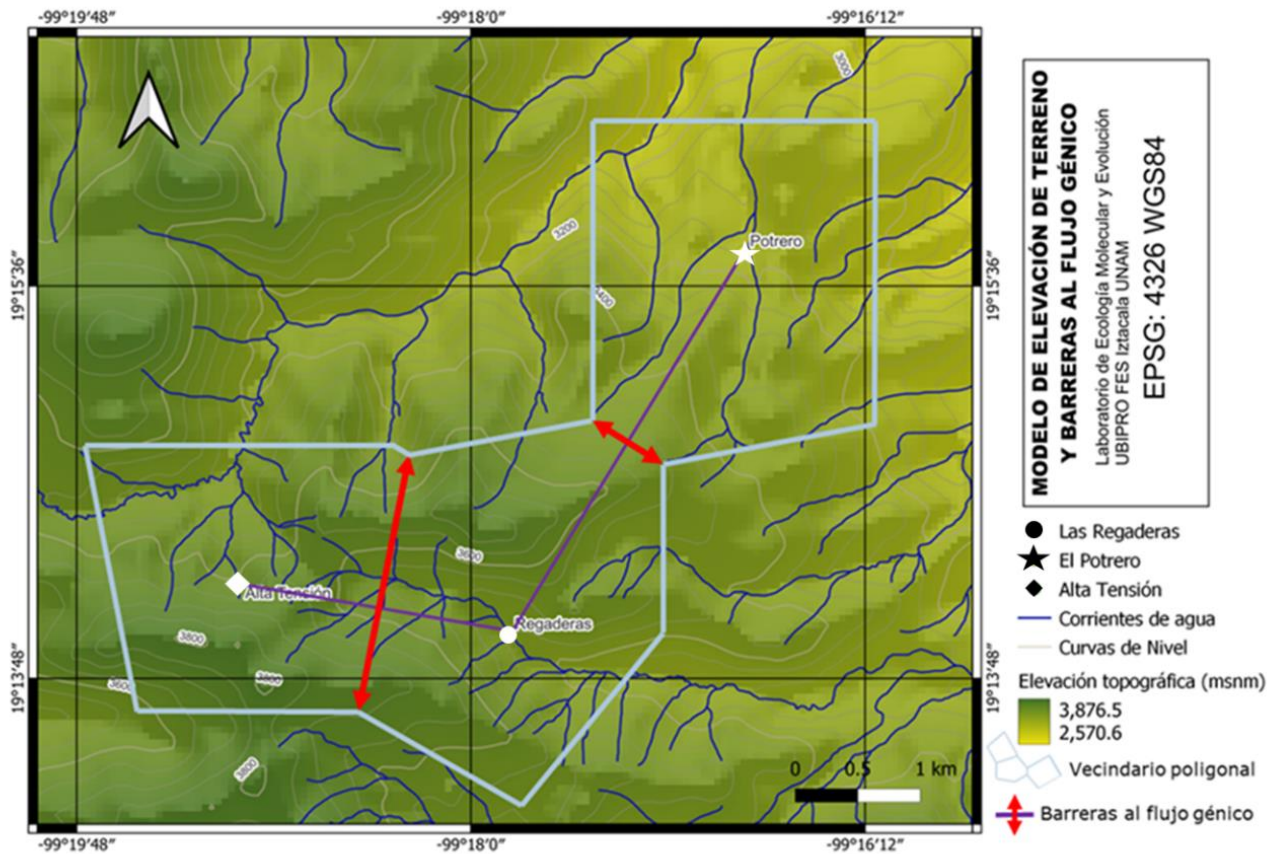


Figura 12. Barreras al flujo génico. Superpuestas en un modelo de elevación realizado con QGIS v3.26.3

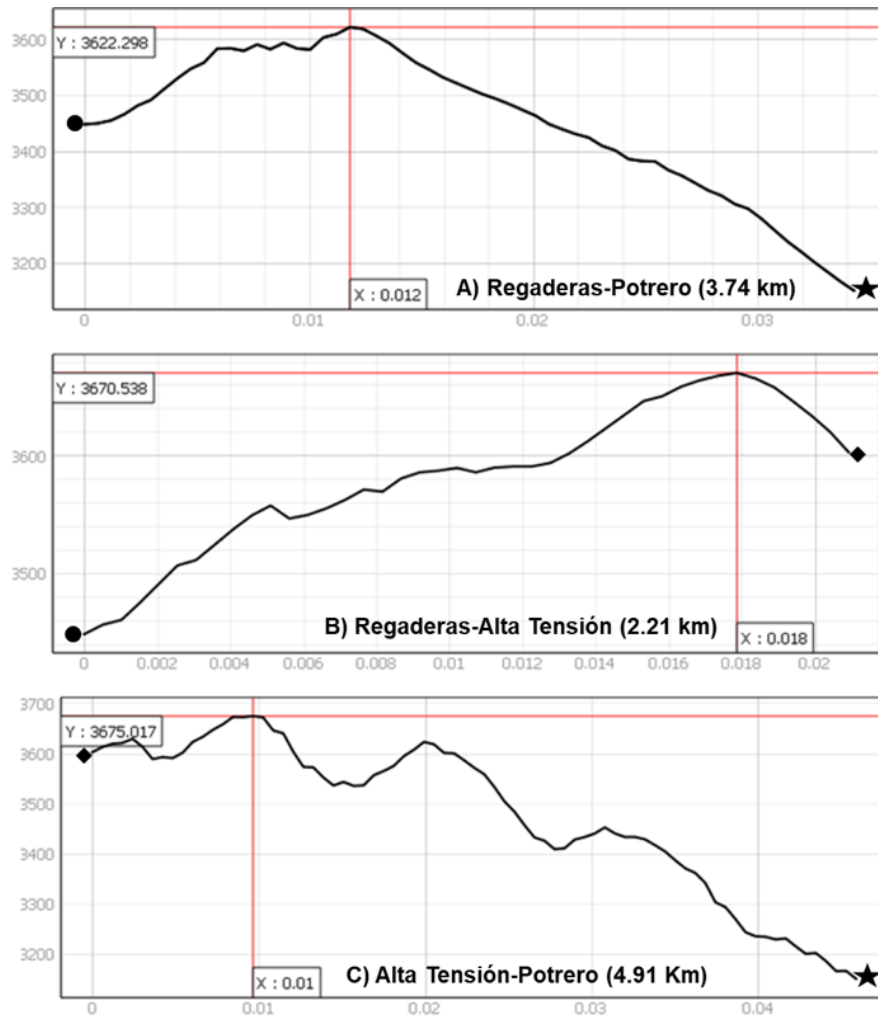


Figura 13. Perfiles topográficos. Realizados con QGIS v3.26.3. De arriba abajo las distancias lineales entre las localidades A) Regaderas-Potrero (3.74 km), B) Regaderas-Alta tensión (2.21 km) y C) Alta Tensión-Potrero (4.91 km), señalando los picos más altos entre cada una de las distancias y su respectiva altitud (m)

4 DISCUSIONES

4.1 Diversidad, Cuello de Botella y Tamaño Efectivo Poblacional

Las localidades muestreadas en este estudio mostraron niveles bajos de diversidad genética comparados a lo que se ha reportado para otras salamandras, por ejemplo, *Salamandra salamandra* presenta números totales de alelos cercanos a 10 y riquezas alélicas cercanas a tres por población (Yannic *et al.*, 2021), mientras que en México, *Pseudoeurycea leprosa* posee números de alelos mayores a 30, riquezas alélicas cercanas a cinco, y riquezas privadas de hasta uno; entre tanto *Pseudoeurycea robertsi* presenta un número total de alelos mayor a 20 (González-Fernández, *et al.*, 2019).

En salamandras del género *Ambystoma* como *A. velasci*, *A. taylori*, y *A. granulorum* la riqueza alélica son mayores a seis y cercanos a ocho, incluso *A. mexicanum* posee una riqueza alélica de cinco (Percino-Daniel, 2008; Parra-Olea, *et al.* 2012). En *A. leorae* se encuentran riquezas cercanas a cuatro (Sunny *et al.*, 2014a) y *A. rivulare* cercanos a tres (Heredia-Bobadilla *et al.*, 2016).

Aunque *Ambystoma altamirani* suele presentar niveles de diversidad genética más bajos a comparación de otros ajolotes del género *Ambystoma*, nuestros resultados se encuentran en valores similares en número de alelos reportas y heterocigosidades (Parra-Olea *et al.*, 2007; 2012), no obstante, Heredia-Bobadilla, *et al.* (2017) encuentran valores de riqueza mayores a tres, y una población con riqueza exclusiva de dos, presentando valores similares a las poblaciones estudiadas en el Estado de México (Monroy-Vilchis *et al.*, 2019).

En general se asocia esta baja diversidad genética en los ambystomátidos a los cuellos de botella, flujo génico bajo entre poblaciones y a la historia de vida de poblaciones pedomórficas. Sin embargo, *A. altamirani* presenta niveles más bajo incluso entre poblaciones de otras especies de *Ambystoma* (Parra-Olea *et al.*, 2012). *A. altamirani* es una especie que ha sido afectada por el hongo quítrido, siendo los individuos en este estado larvario más susceptibles a la infección asociado a la dinámica condiciones ambientales (Basanta *et al.*, 2022), por lo que la muerte de larvas infectadas por quitridiomycosis es más frecuente en individuos

con branquias (Guerrero de la Paz, *et al.*, 2020; Vazquez-Trejo, 2020) lo cual podría verse reflejado en la diversidad genética.

No obstante, los bajos valores de diversidad obtenidos en el presente trabajo puede estar aunado al bajo número de *loci* analizados debido a la detección de alelos nulos en este trabajo dejando la mitad de marcadores disponibles para realizar los análisis, el número ideal de *loci* de microsatélites para estudios de diversidad en salamandras y ajolotes, particularmente *Ambystoma altamirani* es de ocho (González-Fernández, *et al.*, 2019; Monroy-Vilchis, *et al.*, 2019)

Por otra parte, en los diferentes estudios que han analizado la diversidad genética de *A. altamirani* no suelen encontrar o reportar la presencia de alelos nulos, a pesar que utilizan los mismos marcadores moleculares (por ejemplo, Monroy-Vilchis, *et al.*, 2019). Se han reportado en otros estudios con ajolotes del género *Ambystoma*, la presencia de alelos nulos utilizando los mismos marcadores moleculares y descartándolos de los análisis genéticos, tal es el caso de Percino-Daniel (2008) y Parra-Olea *et al.* (2012), entre los cuales se encuentran los loci At52.1, At52.115, At.52.20, y At.60.3, concordantes a los reportado en este trabajo.

Los alelos nulos son aquellos que no producen una señal detectable en la genotipificación (Selkoe, *et al.*, 2006; Freeland *et al.*, 2020) no obstante, estos pueden afectar la diversidad alélica visible de las poblaciones y pueden inflar los estimados de flujo génico cuando la tasa de mutación es alta debido a homoplasias (Selkoe, *et al.*, 2006).

No obstante, la baja diversidad alélica que se ve asociada en especies del género *Ambystoma* a cuellos de botella se ve compensada con altos valores de heterocigosidad, mayores a 0.5 en la mayoría de los casos (Parra-Olea *et al.*, 2012, Monroy-Vilchis *et al.*, 2019, Sunny *et al.*, 2014a, Heredia-Bobadilla *et al.*, 2017; 2021). Una alta heterocigosidad se relaciona a un mayor vigor el cual es un aumento de la adecuación por organismos genéticamente distintos (Freeland y Petersen 2020), siendo las poblaciones de *Ambystoma* con alta heterocigosidad un indicador de lo valiosas que son estas especies y sus poblaciones (Heredia-Bobadilla *et al.*, 2021).

En los cuellos de botella la riqueza alélica se ve alterada si los sobrevivientes de un cuello de botella son una unidad familiar, la primera generación será endogámica y la heterocigosidad se perderá, aunque se recupere la población, en cambio si los sobrevivientes son individuos sin parentesco, los efectos de la endogamia requerirían varias generaciones a pesar de si la población permanezca pequeña (Loo, 2011), situación que encontramos en las localidades estudiadas, donde a pesar de una diversidad baja, encontramos una heterocigosidad moderadamente alta, misma que ha sido reportada como moderada y alta por Parra-Olea *et al.* (2007, 2012), Heredia-Bobadilla *et al.* (2017) y Monroy-Vilchis *et al.* (2019).

Aunque nuestros resultados no detectan cuellos de botella directamente, hay que tener precaución debido a que nuestros datos no satisfacen la totalidad de supuestos que requiere Bottleneck al no completar cuatro alelos polimórficos para cada localidad (Piry, Luikart y Cornuet, 1999), aun así, se observa una tendencia hacia la heterocigosis. Además, el índice Garza-Williamson marca evidencia de un posible cuello de botella, ya que un < 0.68 indica reducción poblacional mediante relación media entre el número de alelos y el rango de tamaño de los alelos debido a que el número de alelos suele ser más reducido que el rango cuando ocurre una reducción reciente en el tamaño de la población, de modo que la distribución de la longitud del alelo mostrará posiciones "vacantes" (Garza y Williamson, 2001, Excoffier, *et al.*, 2005).

En salamandras el tamaño efectivo es del orden de los centenares hasta millares como en *Ambystoma taylori* y *A. velasci* que calculados a partir de la migración histórica llegan hasta 5000 individuos (Percino-Daniel, 2008). Los tamaños efectivos en *A. rivulare* han sido de 8 individuos a 20 individuos (Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2017), mientras que en *A. leorae* va de 23 individuos a 45 individuos (Sunny *et al.*, 2014). En *A. altamirani* se han sugerido que el tamaño efectivo poblacional va de 6 individuos a 8 individuos (Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2017). De acuerdo con Monroy-Vilchis *et al.*, (2019) van de 35 individuos, 44 individuos hasta 58 individuos, dependiendo la población.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran una reducción del tamaño efectivo, aunque la localidad de las Regaderas mantuvo tamaños similares, ambos cercanos a los 200 individuos, por lo que podría explicar por qué no se detectó un cuello botella de manera general.

Los tamaños efectivos poblacionales pueden disminuir por diversos factores como cuellos de botella, aislamiento genético, asimetría en la proporción de machos y hembras y la diferencia en el éxito reproductivo entre individuos (Sunny *et al.*, 2014a). En *A. altamirani* se ha visto que, en poblaciones de la Sierra de las Cruces, Estado de México, la proporción sexual está sesgada a hembras 2:1 (Villanueva-Camacho, *et al.*, 2020).

Otra conjetura sobre la reducción de los tamaños efectivos poblacionales en la especie, pudiera haber sido que los ajolotes fueron consumidos por grupos humanos con anterioridad, lo cual pudiera verse reflejado en su decremento poblacional (Sunny *et al.*, 2014ab; Vázquez-Trejo, 2020), así mismo, también los cuellos de botella históricos pudieron darse por efecto fundador debido a la fragmentación de su hábitat (Vázquez-Trejo, 2020; Sunny *et al.*, 2014a).

4.2 Estructura, Flujo genético y Barreras

La variación genética encontrada en el presente trabajo indica más variación dentro de los individuos y entre los individuos dentro de las localidades que en la población total. Distinto a lo reportado por Monroy-Vilchis *et al.*, (2019) encontraron en *Ambystoma altamirani* una mayor variación dentro de la población y entre poblaciones, también en la especie se ha reportado una mayor variación dentro de los individuos mayor a lo reportado en este trabajo (Heredia-Bobadilla *et al.*, 2017)

Cuando la variación se encuentra mayormente a nivel individual que, entre poblaciones, en conservación la idea de que la fuente de variación genética está representada a nivel individual debe considerarse como un criterio de interés para la conservación (Solórzano *et al.*, 2009). De acuerdo con Wright (1978) los intervalos de 0-0.05 hay poca diferenciación genética, de 0.05 -0.15 hay moderada diferenciación genética, mientras que valores de 0.15 -0.25 indican alta

diferenciación genética y valores > 0.25 hay diferenciación genética muy grande. Del mismo modo un valor de $F_{ST} = 0.2$ permitiría una diferenciación suficiente entre poblaciones, mientras mantiene una pérdida aceptable de heterocigosidad dentro de las poblaciones (Loo, 2011), por lo que se puede encontrar que la localidades estudiadas presenta una estructura y diferenciación genética, lo observado es concordante con lo reportado por Sunny *et al.* (2014a), Heredia-Bobadilla, *et al.* (2017) y Monroy-Vilchis *et al.* (2019), quienes reportan aislamiento por distancia y la estructuración genética obedeciendo directamente a la fragmentación del hábitat, la destrucción del hábitat y la introducción de especies exóticas, actividades humanas que han afectado los tamaños poblacionales y la estructura de la población.

La estructuración podría deberse a cambios fisicoquímicos en los arroyos e incluso los tipos de sustrato, factores que son señalados como factores que tienen repercusiones en la estructura genética de distintas especies de *Ambystoma*, (Sunny *et al.* 2014b; Lemos-Espinal *et al.* 2016; Heredia-Bobadilla *et al.*, 2017). Particularmente *Ambystoma altamirani* prefiere sitios de arroyos con ciertas peculiaridades, como lugares con un mayor volumen de agua, niveles más altos de oxígeno disuelto, agua que se mueve más rápido, sitios con hierbas y pastos emergentes, así como sitios con sustratos de color negro como lodo y arena para ocultarse para evitar la depredación (Sunny *et al.* 2014b; Lemos-Espinal *et al.* 2016; Heredia-Bobadilla *et al.*, 2017).

A pesar de la estructuración, se encontró pertenencia a cada grupo genético de los individuos, por lo que el flujo existe en entre varias localidades. (Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2017 y Monroy-Vilchis *et al.*, 2019) En el presente trabajo se encontró una situación similar con mucha migración entre localidades cercanas. Además, Parra-Olea, *et al.* (2012) encuentra que hay introgresiones entre las poblaciones pedomórficas y metamórficas de distintas especies, lo que sugiere que las barreras para la reproducción resultantes de este cambio en el historial de vida son incompletas y por tanto flujo génico entre las poblaciones pedomórficas y metamórficas es más alto de lo que se pensaba antes (Everson *et al.*, 2021).

Particularmente *Ambystoma altamirani*, se ha visto que las condiciones geográficas, estructuran poblaciones donde se aíslan un grupo genético, pero también otras poblaciones con intercambio genético entre *A. rivulare* y *A. leorae*, especies más cercanas geográficamente con las que tienen más flujo génico, independientemente de que estén clasificadas como distintas (Parra-Olea *et al.*, 2012; O'Neill *et al.*, 2012, Everson *et al.*, 2021) por lo que se ha llegado a sugerir que estas tres especies podrían tratarse de subespecies más que de especies distintas, debido a que se agrupan en un mismo clado (Everson *et al.*, 2021), mismo que ya ha sido reconocido por Frost (2023).

Se ha visto que en el complejo *Ambystoma* la agrupación de especies entre Clados contienen una mezcla de taxones pedomórficos y metamórficos (Parra-Olea *et al.*, 2012) lo que indica que el aislamiento geográfico ha jugado un papel más importante en la divergencia de linajes que la pedomorfosis en este sistema. (Everson *et al.*, 2021). Tanto análisis filogenéticos como geográficos indican que la estrategia de vida no tiene ningún efecto sobre la diferenciación genética de la población habiendo flujo genético entre poblaciones metamórficas y pedomórficas adyacentes (facultativos) debido a la alta plasticidad fenotípica de las diferentes especies de *Ambystoma* (Weisrock *et al.*, 2006; Parra-Olea *et al.*, 2012; O'Neill *et al.*, 2012; Everson, *et al.*, 2021).

Este tipo de estudios de índole filogeográfico son relevantes importante en genética poblacional ya que demuestra cómo la introgresión histórica puede conducir a diferencias radicales entre las filogenias en historias de especies, incluso entre especies alopátricas actualmente con adaptaciones y morfologías divergentes de historia de vida (Avice, 2000; Freeland y Petersen, 2020). Tanto la topografía como la distancia geográfica pueden ser barreras al flujo génico para anfibios, como para otros organismos (Wang, 2009, Wright, 1946).

En el presente estudio se encontraron niveles de flujo génico mayores a lo reportado para *Ambystoma taylori* y *A. velasci* en la Cuenca Oriental (Percino-Daniel, 2008; *et al.*, 2016) y que lo reportado para *A. altamirani* por Monroy-Vilchis *et al.*, (2019). Por lo que podemos afirmar que ocurre un aislamiento por distancia

está actuando en las localidades que un permiten el intercambio entre localidades debido a la cercanía.

No se encontró en este estudio la robustez de barreras al flujo génico, esto se puede deber a la estructura de los datos, que no permitieron un remuestreo de bootstrap, ya que las matrices de distancia fueron sencillas.

Sin embargo, aun en ausencia de la significancia de las barreras, se puede afirmar que se están superando debido al flujo génico detectado en este trabajo, debido a que, a pesar de que la topografía de la distancia lineal (Figura 13) excede los límites de distribución altitudinal reportados para la especie (IUCN, 2020), las localidades estudiadas se encuentran dentro de la misma subcuenca del río Moctezuma (INEGI, 2010) siendo conectadas por los escurrimientos de agua.

De modo que incluso con aislamiento por distancia, el flujo génico puede verse facilitado tanto por factores ambientales (Sandberger-Loua *et al.*, 2017). Y aunque la vagilidad de los anfibios se reconozca como baja comparada a otros vertebrados, hoy en día se supone comúnmente que cuando las redes de estanques están separadas por estas distancias aproximadas (~10 km), los anuros y las salamandras pueden dispersarse a un ritmo que hace que incluso las poblaciones aisladas se conecten entre sí (Smith y Green 2005; Yannic *et al.* 2021)

En general en ajolotes se han visto migraciones que ocurren entre estanques temporales y lagos cuando los individuos buscan hábitats ricos en alimentos (Percino-Daniel *et al.* 2016), lo que vuelve una situación factible considerando que las localidades estudiadas no están alejadas por más de 5 km entre sí, y se han observado de manera empírica alta migración en campo (Jiménez-Arcos, *com. pers.* 2023).

Además, se ha sugerido que las salamandras podrían tener más vagilidad de lo que se pensaba como el caso de *Ambystoma maculatum* (Davis *et al.*, 2023) donde se ha observado que además de la fidelidad interanual variable, asociada positivamente a la densidad poblacional, se presentan tasas de dispersión reproductiva, con hembras que muestran mayor fidelidad interanual de sitio y mayores distancias de dispersión que los machos. Ya que los machos en las

temporadas de reproducción exhibieron movimientos a corto plazo dentro, y solo un 6% se dispersan a un nuevo humedal cada día.

En contraposición, se han detectado barreras en *Ambystoma leorae* dentro de la Sierra Volcánica Transmexicana ha presentado barreras al flujo en poblaciones cercanas debido a la topografía (Sunny *et al.*, 2014b), mientras que se ha sugerido que en *A. altamirani* la cercanía entre dos poblaciones en la Sierra Volcánica Transmexicana (Monroy-Vilchis, 2019) a no más de 2.5 km de distancia lineal estaría facilitando el flujo génico. Si estos movimientos son más frecuentes de lo pensado en *A. altamirani* podría explicar el hecho de que los tamaños poblacionales y fenologías sean tan variados (Ramírez-Bautista, *et al.*, 2009; Rodríguez-Reyes, 2009; García-Rodríguez, 2013; Lemos-Espinal *et al.*, 2016b; Villarreal-Hernández, 2019; Vazquez-Trejo, 2020, Villanueva-Camacho, *et al.*, 2020).

Aunque en general, *Ambystoma altamirani* tiende a ser difícil de observar, dado que la frecuencia de registros es mucho más baja en temporada de Invierno (Vázquez-Trejo, 2020) además de que se encuentran en espacios de más difícil acceso, como pequeñas cuevas o entre las rocas, lo que dificultaba su detección al igual que *A. leorae* (Lemos-Espinal, 1999)

4.3 Endogamia

Se encontraron niveles bajos de endogamia, aunque cabe recalcar que en la localidad Alta Tensión hubo un sesgo de muestreo a una sola puesta de individuos, concordante al valor más alto de endogamia obtenidos, aunque no resultaron significativos.

En general en anfibios el índice FIS soliendo rondar cerca del 0.3 (Percino-Daniel, 2008). No obstante, poblaciones de *Ambystoma taylori* han tenido endogamia alta (Percino-Daniel, 2008;) en Salamandras como *Salamandra salamandra* se han encontrado niveles de endogamia bajos (Yannic *et al.*, 2021), igual que en *A. bishopi* (Williams *et al.*, 2021). No obstante, poblaciones de *A. taylori* han tenido endogamia alta (Percino-Daniel, 2008)

En distintas especies de *Ambystoma* se han encontrado bajos niveles de endogamia, donde también se han encontrado niveles moderadamente altos de heterocigosidad, (Tanto Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2017 y Monroy-Vilchis *et al.*, 2019) lo cual podría explicarse mediante la hibridación de líneas parentales endogámicas, pero sin parentesco (Loo, 2011), sin embargo, aún no se determina qué factores les permiten que *A. altamirani*, al igual que *A. leorae* y *A. rivulare* evitar la endogamia (Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2017).

Se ha propuesto que otras salamandras de la familia *Plethodontidae*, podrían tener reconocimiento químico en la piel a través del olfato y que sean capaces de diferenciar entre machos y hembras de la misma especie (Sunny *et al.*, 2009), de hecho se sabe que el sistema olfatorio de *Ambystoma maculatum* está muy involucrado en la orientación, pues se sabe que migra en las noches nubladas y lluviosas, pero localiza estanques, discriminando entre las fuentes de olor, orientándose preferentemente hacia el olor de su estanque de origen, (Vitt y Caldwell, 2014).

Cabe resaltar que, dentro de especies metamórficas, *A. altamirani* es una de las especies que cuenta con mayor endogamia, pero aun así presenta una menor endogamia que especies pedomórficas obligadas (Parra-Olea *et al.* 2012). Por lo que se puede concluir que los valores bajos en riqueza, pero alta heterocigosidad y baja endogamia, pueden explicarse por distintos factores como la existencia de un número poblacional muy grande que haya pasado por reducción por cuellos de botella, mismos que hayan dejado pasar individuos no tan emparentados, así como y principalmente por la migración y flujo génico entre localidades cercanas, más que a estrategias de competencia y reproducción multiparental observadas en otros grupos de salamandras (Vitt y Caldwell, 2014). Lo cual es concordante a lo encontrado en el presente trabajo y a observaciones de alta migración en campo (Jiménez-Arcos, *com. pers.* 2023).

4.4 Implicaciones en la conservación

Las evaluaciones del estado de conservación en las especies de anfibios se deben enfatizar de acorde a las actualizaciones taxonómicas, estimaciones precisas

de diversidad considerando especies crípticas, lagunas de muestreo, así como la importancia ecosistémica de las especies, impactos del cambio climático y la viabilidad de las especies en sus ecosistemas (Villamarin *et al.*, 2022).

Los estudios en genética poblacional han sido esenciales en las estrategias de conservación de los ajolotes (Parra-Olea, *et al.*, 2012, Sunny *et al.*, 2019, Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2021), especialmente han servido para contrastar con los riesgos a los que esta especie se encuentra sometida. Heredia-Bobadilla, *et al.* (2021) entre los argumentos de riesgo que amenazan a las especies de ajolote de montaña, propone que estas deben de subir un nivel de categoría de riesgo en la NOM-059-2010, particularmente catalogar a *Ambystoma altamirani* como una especie en peligro de extinción y ya no sólo como amenazada gracias a considerar factores en la genética poblacional.

Sugiriendo que la endogamia puede aumentar en sitios perturbados (Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2017). No obstante, la baja diversidad alélica que se ve asociada en especies del género *Ambystoma* a cuellos de botella se ve compensada con altos valores de heterocigosidad, mayores a 0.5 en la mayoría de los casos (Parra-Olea *et al.*, 2012, Monroy-Vilchis *et al.*, 2019, Sunny *et al.*, 2014a, Heredia-Bobadilla *et al.*, 2017; 2021). Una alta heterocigosidad se relaciona a un mayor vigor el cual es un aumento de la adecuación por organismos genéticamente distintos (Freeland y Petersen 2020), siendo que las poblaciones de *Ambystoma* con alta heterocigosidad son un indicador de lo valiosas que son estas especies y sus poblaciones (Heredia-Bobadilla *et al.*, 2021)

La migración es un proceso que influye fuertemente las frecuencias alélicas de genes neutros en poblaciones pequeñas y no aisladas en su totalidad, si éstas no están aisladas totalmente, donde el efecto sobre una población pequeña depende del número de inmigrantes por generación y la diferencia entre la frecuencia génica de la población donante y la población receptora, siendo que un migrante efectivo por generación es suficiente para proteger a las poblaciones de los efectos la deriva génica (Loo, 2011). En el presente trabajo encontramos niveles muy altos de

migración que se consideran vitales de considerar en las estrategias de conservación.

Especialmente porque el flujo génico entre distintas especies y poblaciones de ajolotes es bajo (Parra-Olea *et al.*, 2012, Williams *et al.*, 2021), lo que significa que la conservación de la diversidad genética de *Ambystoma* en México requerirá una gestión de la población que tenga en cuenta la conectividad entre las poblaciones, y a que la migración es importante debido a que puede contrarrestar los efectos de la deriva génica (Loo, 2011) aunque en poblaciones pequeñas, se ha propuesto que de 3-10 migrantes por generación son necesarios para mantener un nivel particular de endogamia (Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2017).

Aunque la estrategia más obvia de conservación es el restablecimiento del flujo génico entre localidades con el fin de aumentar el vigor (Loo, 2011; Freeland y Petersen, 2020), se debe evitar la cruce entre individuos muy diferentes provenientes de poblaciones lejanas sin parentesco debido a que podría resultar en desadaptación por depresión exogámica (Loo, 2011). Ya que lo que la disrupción de estas características por entrecruzamiento podría resultar en individuos poco adaptados a cada ambiente particular (Rocha y Gasca, 2007), por lo que se debe facilitar el flujo génico entre poblaciones cercanas y no en las lejanas, teniendo cuidado de no interrumpir el flujo génico natural realizando translocaciones se realicen entre poblaciones con antecedentes genéticos similares y que el número de individuos translocados sea suficiente para mantener la diversidad genética y minimizar el riesgo de endogamia. (Williams *et al.*, 2021)

Además, gracias a la estructuración y diferenciación de las localidades debido a la migración podemos considerar cada localidad en este estudio como una Unidad de Manejo (UM) por la baja conectividad que hay entre cada una de ellas por lo que deben ser monitoreadas y manejadas por separado dando seguimiento a cambios en la variabilidad genética a corto plazo (Taylor y Dizon, 1999). Sin embargo, hay que tomar en cuenta que, debido al muestreo de una sola puesta, la localidad de Alta Tensión hay que tener precaución al considerarla como una UM.

Se ha propuesto que la especie no sólo se ve amenazada por factores genéticos de manera intrínseca, factores como la deforestación del bosque de pino y oyamel en los principales corredores donde la especie se encuentra, aunado a factores antrópicos como fragmentación y destrucción del hábitat, la introducción de especies exóticas, y otras actividades humanas que han afectado los tamaños poblacionales y la estructura de la población (Monroy-Vilchis *et al.*, 2019; Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2021).

El incremento de asentamientos humanos resulta en una mayor demanda de servicios como agua potable (Heredia-Bobadilla *et al.*, 2021). La mayoría de los arroyos en la Sierra de las Cruces Estado de México se caracterizan por tener agua limpia y clara, la cual desvían para su consumo causando la disminución de los niveles de agua, y en casos extremos la total desecación ha registrado poblaciones de *Ambystoma altamirani* en la Sierra de las Cruces las cuales al parecer están libres de los problemas anteriormente mencionados (Lemos-Espinal, 2003). Todas estas poblaciones se encuentran en porciones de arroyo que corren por en medio de bosques densos de *Abies religiosa*, *Pinus hartwegii* o *Pinus montezumae*, por lo que se ha sugerido su ausencia como un indicador de contaminación de cuerpos de agua (Lemos-Espinal, 2003), por lo que preservar áreas con la vegetación donde habita *A. altamirani* es crucial para su conservación (Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2017)

La especie *Ambystoma altamirani* se ha visto afectada por la introducción de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y por infección de quitridiomicosis relacionado a condiciones ambientales (Basanta *et al.*, 2022) además de ser vulnerable a la extracción, tráfico ilegal y otras amenazas para anfibios mexicanos (Parra-Olea *et al.*, 2014; Santos-Barrera, *et al.*, 2022).

Siendo que *Ambystoma altamirani* es una especie indicadora de la calidad del hábitat (Heredia-Bobadilla, *et al.*, 2021) su conservación se beneficiará las especies que cohabitan en los mismos ecosistemas, fungiendo como una especie sombrilla, al proteger otras especies mediante una especie representativa indicadora de la salud ecosistémica con patrones de distribución de otras especies ligadas al mismo hábitat (Leadley y Wittaker, 2011). Esto podría lograrse al considerar cada localidad

como una unidad de manejo, lo que permitiría mantener la conectividad del hábitat entre las poblaciones para el mantenimiento de la diversidad genética a través de la migración.

Es complejo el establecimiento de tamaños mínimos de reserva que sean capaces de abarcar metapoblaciones completas, expandiendo a la metapoblación más grande para preservar la comunidad y el ecosistema (Vitt y Caldwell, 2014). Particularmente en ambystomátidos, que son anfibios que se reproducen en estanques, adultos fuera del borde de sus estanques de reproducción se han encontrado a una media de distancia de 125m. Asumiendo que el área dentro la distancia media contiene al 50% de la población, una zona de amortiguamiento tendría que extenderse 164m más allá del borde del estanque para abarcar actividades terrestres del 95% de poblaciones (Vitt y Caldwell, 2014).

A su vez, el monitoreo de la migración se puede acompañar con el monitoreo de la dispersión de infecciones, debido a la relación que encuentra Basanta *et al.* (2022) con la infección por hongo quítrido entre individuos pedomórficos de *A. altamirani* y hongo quítrido *Bd*, con el ambiente, como la altitud, la estacionalidad así como algunas características fisicoquímicas de la calidad del agua, debido a que tanto el hongo *Bd* como los ajolotes pedomórficos de esta especie necesitan mucha concentración de oxígeno disuelto en agua, y eso ayuda la probabilidad de infección.

Aunque las limitaciones este trabajo se deben al tamaño muestral de las localidades, así como la presencia de alelos nulos y el tipo de marcador de microsatélite que permitan la a proposición de otro tipo de unidades de conservación requiere distintas formas de medir la diversidad genética, otro tipo de proposiciones de cada subpoblación o deme como lo son las unidades Evolutivamente Significativas (UE's) propuestas por ejemplo para *A. velasci* y *A. taylori* (Percino-Daniel, 2008).

Como perspectiva posterior, se propondría para poder pasar a Unidades de Acción (UA's) que implementen poblaciones cautivas para su reintroducción y liberación, se debe conocer el estado de la diversidad genética de las poblaciones candidatas

para identificar los sitios apropiados donde las poblaciones tienen una variabilidad genética similar a las de reproducción (Qiu-Hong et al., 2004), se sugiere continuar los estudios realizando análisis de paternidad. Así como aumentar parámetros de muestreo como la recolección de datos ambientales que permitan hacer genética del paisaje y observar de forma más precisa qué otros factores ambientales están jugando un papel importante en la diferenciación y aislamiento genético de esta especie (Sunny et al., 2014, Balkenhol et al., 2016, González-Fernández et al., 2019)

La conservación de la población de estas tres localidades puede ser relevante para asegurar el mantenimiento de la diversidad genética gracias al flujo génico a través de la migración que exista entre las localidades aledañas donde se ha registrado poblaciones de esta especie (Woolrich-Piña et al., 2017)

5 CONCLUSIONES

1. Las poblaciones de *Ambystoma altamirani* analizadas mostraron valores bajos diversidad genética comparados con otras poblaciones de esta especie, así como otras especies de la familia y orden.
2. La endogamia no fue significativa, salvo en la localidad de Alta Tensión. Sin embargo, en esta población se tiene un sesgo de muestreo debido a que solo se incluyeron individuos de una puesta lo cual sugiere que no es una muestra representativa.
3. Las tres localidades se encuentran diferenciadas en tres grupos genéticos por aislamiento geográfico debido a los limitados, pero existentes, niveles de flujo génico.
4. La ocurrencia de cuellos de botella recientes no fue detectada de manera directa, aunque no se descarta la posibilidad dado que otros indicadores lo sugieren, por lo que se recomienda aumentar el tamaño de muestra a analizar.
5. Los patrones de diversidad genética y bajos niveles endogamia son mantenidos por la diversidad conservada posterior a las reducciones poblacionales, pero principalmente a la migración.
6. Se propone considerar cada localidad como una Unidad de Manejo en la implementación de acciones para su conservación.

6 LITERATURA CITADA

- Aguilera-Hernández, A. 2017. Tesis de Licenciatura. Estructura y diversidad genética de una salamandra microendémica (*Pseudoerycea robertsi*) y críticamente amenazada del Nevado de Toluca. UAEM
- Alford, R. A., K. S. Bradfield, y S. J. Richards. 2007. Global warming and amphibian losses. *Nature*. 447 (7144): E3-E4
- Arriola-Padilla, V. J., Estrada-Martínez, E., Ortega-Rubio, A., Pérez-Miranda, R., Gijón-Hernández, A. R. 2014. Deterioro en Áreas Naturales Protegidas del centro de México y del Eje Neovolcánico Transversal. *Investigación y Ciencia*, 22 (60), 37–49.
- Avise, J. C., 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press,
- Bulut, Z., C. R. McCormick, D. Gopurenko, R. N. Williams, D. H. Bos, y J. A. DeWoody. 2008. “Microsatellite Mutation Rates in the Eastern Tiger Salamander (*Ambystoma tigrinum tigrinum*) Differ 10-Fold across Loci.” *Genetica* 136 (3): 501–4.
- Balkenhol, Niko. 2016. *Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications*. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons Ltd.
- Basanta, M. Delia, R. Alejandro Calzada-Arciniega, Gustavo Jiménez-Velázquez, Sandra F Arias-Balderas, Atziri A. Ibarra-Reyes, Gonzalo Medina-Rangel, Ileri Suazo-Ortuño, Leticia M. Ochoa-Ochoa, y Gabriela Parra-Olea. 2019. “Detection of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Threatened Endemic Mole Salamanders (*Ambystoma*) in Mexico.” *Herpetological Review* 50 (3) (2019): 493–95.
- Basanta, M. D., S. L. Anaya-Morales, E. Martínez-Ugalde, T. M. González Martínez, V. D. Ávila-Akerberg, M. V. Trejo, y E. A. Rebollar. “Metamorphosis and Seasonality Are Major Determinants of Chytrid Infection in a Paedomorphic Salamander.” *Animal Conservation*, 2022.

- Beerli, P. 2009. How to use MIGRATE or why are markov chain monte carlo programs difficult to use. *Population Genetics for Animal Conservation*, 17, 42–79.
- Beerli, P., S. Mashayekhi, M. Sadeghi, M. Khodaei, y K. Shaw. 2019. Population Genetic Inference With MIGRATE. *Current Protocols in Bioinformatics*, 68(1).
- Bohonak, A.J. 1999. Dispersal, gene flow and population structure. *Q. Rev. Biol.* 44, 21-45
- Bohonak, A. J. 2002. "IBD (Isolation by Distance): A Program for Analyses of Isolation by Distance." *Journal of Heredity* 93(2): 153–54.
- Bolivar, A. M., A. Rojas, y P. Garcia-Lugo. 2014. PCR y PCR-Múltiple: Parámetros Críticos y Protocolo de Estandarización. *Avances en Biomedicina*, 3 (1) (2014): 25–33.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. CONANP. 2009. Monitoreo del Ajolote (*Ambystoma altamirani*) en el Parque Nacional Lagunas de Zempoala
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Secretaría del Medio Ambiente del Distrito Federal (SEDEMA). 2016. La Biodiversidad en la Ciudad de México. CONABIO/SEDEMA. México
- Coombs J.A., B. H. Letcher y K. H. Nislow 2008. Create: a software to create input files from diploid genotypic data for 52 genetic software programs. *Mol Ecol Resour.* 8(3): 578-80.
- Cutter, A. D. 2019. *A Primer of Molecular Population Genetics*. Oxford: Oxford university press,
- Davis, C. L., D. J. Muñoz, S. M. Amburgey, C. R. Dinsmore, E. W. Teitsworth, y D. A. Miller. 2023. "Multistate Model to Estimate Sex-Specific Dispersal Rates and Distances for a Wetland-Breeding Amphibian Population." *Ecosphere* 14, (1). ¿
- "Demografía y Geografía De La Alcaldía La Magdalena Contreras." Alcaldía La Magdalena Contreras. 2021. <https://mcontreras.gob.mx/wp->

content/uploads/2022/01/DEMOGRAFIA_Y_GEOGRAFIA_ALMC_03-01-2022.pdf

- Dieringer, D. y C. Schlötterer. 2003. "Microsatellite analyser (MSA): A platform independent analysis tool for large microsatellite data sets," *Molecular Ecology Notes*, 3(1): 167–169.
- Do C, RS. Waples, D. Peel, G. M. Macbeth, B. J. Tillett, Ovenden JR. 2014. NeEstimator 2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from ge-netic data. *Molecular Ecology Resources* 14: 209–214.
- Dugès, A. 1895. Description d'un axolotl des montagnes de Las Cruces (*Ambystoma altamirani*, A. Dugès). Imprimerie du Ministère de Fomento. Institut Medico-National. México, D.F.
- Eguiarte, Luis E., Valeria Souza, y Xitlali Aguirre. *Ecología Molecular*. México, D.F.: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, 2007.
- Evanno, G., Regnaut, S. y J. Goudet. 2005. "Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study," *Molecular Ecology*, 14(8): 2611–2620.
- Everson, Kathryn M., Levi N. Gray, Angela G. Jones, Nicolette M. Lawrence, Mary E. Foley, Kelly L. Sovacool, Justin D. Kratovil, *et al.* 2021. Geography Is More Important than Life History in the Recent Diversification of the Tiger Salamander Complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118 (17)
- Excoffier, L. G. Laval, y S. Schneider .2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- Fan, H., Y. Hu, Q. Wu, Y. Nie, L. Yan, y F. Wei. 2018. "Conservation Genetics And Genomics Of Threatened Vertebrates In China". *Journal Of Genetics and Genomics* 45 (11): 593-601.
- Farkas J.E., J. R. Monaghan. 2015. Housing and maintenance of *Ambystoma mexicanum*, the Mexican axolotl. *Methods Mol Biol.* 1290:27-46.

- Frankham, R., J. D. Ballou, y D. A. Briscoe. 2010. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge, UK: 2a ed. Cambridge University Press.
- Frankham, R., J. D. Ballou, K. Ralls, M. Eldridge, M. R. Dubash, C. B. Fenster, R. C. Lacy, y P. Sunnucks. *Genetic Management of Fragmented Animal and Plant Populations*. Oxford: Oxford University Press, 2017.
- Freeland, J. R., H. Kirk, y S. Petersen. 2020. *Molecular Ecology*. 3a ed.
- Frost, D. R. 2023. *Amphibian Species of the World: An Online Reference*. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, USA. Disponible en línea en: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org>
- Galan, P. 1997. Declive de poblaciones de anfibios en dos embalses de La Coruña (Noroeste de España) por introducción de especies exóticas. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 8, 38-40.
- Galeana-Pizaña, J. M., N. Corona-Romero, J. A. B. Ordóñez-Día. 2009. Análisis dimensional de la cobertura vegetal-uso de suelo en la Cuenca del Río Magdalena. *Ciencia Forestal en México*. 34 (105): 135-156
- García-Rodríguez, I.B. 2013. Tesis de Licenciatura. Algunos aspectos ecológicos y reproductivos del ajolote (*Ambystoma altamirani*, Dugés, 1895) del Municipio de Jilotzingo Estado de México. UNAM
- Garza, J.C. y E.G. Williamson. 2001. "Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci," *Molecular Ecology*, 10(2): 305–318.
- Geffen, E., M. J. Anderson y R. K. Wayne. 2004. Climate and habitat barriers to dispersal in the highly mobile grey wolf. *Molecular Ecology*. 13: 2481–2490
- Gleason, F. H., A. Chambouvet, B. K. Sullivan, O. Lilje, y J. J. L. Rowley. 2014. Multiple zoosporic parasites pose a significant threat to amphibian populations. *Fungal Ecol.* 11: 181-192
- Gómez-López, M. A., J. V. Tovar-Pérez, R. Gómez-Maturano, J. Valderrama-Benítez, F. Castañeda, D. Amancio-Rojas, H. Romero-Espejel. 2011. *Atlas de Peligros y/o Riesgos Naturales de la Delegación La Magdalena Contreras* @rtic consultores S. de R. L. de C. V Ciudad de México.
- González-Fernández, A., V. Arroyo-Rodríguez, F. Ramírez-Corona, J. Manjarrez, A. Aguilera-Hernández y A. Sunny. 2019 Local and landscape

- drivers of the number of individuals and genetic diversity of a microendemic and critically endangered salamander. *Landscape Ecology* 34, 1989–2000
- Google. 2022. Google Earth Pro v.7.3.6. Google L.L.L. <https://www.google.com/earth/about/versions/>
 - Goudet J. 2002. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
 - Grant, Evan H., Erin Muths, Benedikt R. Schmidt, y Silviu O. Petrovan. 2019 “Amphibian Conservation in the Anthropocene.” *Biological Conservation* 236: 543–47.
 - Grant; Evan H., David A.W. Miller, y Erin Muths. “A Synthesis of Evidence of Drivers of Amphibian Declines.” *Herpetologica* 76, no. 2 (2020): 101.
 - Guerrero de la Paz, J. G. Tesis de Maestría. 2018 “Aspectos Demográficos y Tróficos De *Ambystoma altamirani* en el Parque Nacional Lagunas De Zempoala.” Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
 - Guerrero de la Paz, J. G., N. Mercado-Silva, R. E. Alcalá, y L. Zambrano. 2020 “Signals of Decline of Flagship Species *Ambystoma altamirani*, Dugès, 1895 (Caudata, *Ambystomatidae*) in a Mexican Natural Protected Area.” *Herpetozoa* 33: 177–83.
 - Guillot G., R. Leblois, A. Coulon, y A. C. Frantz. 2009. Statistical Methods in Spatial Genetics.” *Molecular Ecology* 18, (23): 4734–56
 - Hamilton, M. B. 2009. *Population Genetics*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.
 - Hedrick, P. W. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 59: 1633–1638.
 - Heredia-Bobadilla, R. L., O. Monroy-Vilchis, M. M. Zarco-González, D. Martínez-Gómez, G. D. Mendoza-Martínez, y A. Sunny. 2016. Genetic structure and diversity in an isolated population of an endemic mole salamander (*Ambystoma rivulare* Taylor, 1940) of central Mexico. *Genetica*. 144 (6): 689-698
 - Heredia-Bobadilla, R. L., O. Monroy-Vilchis, M. M. Zarco-González, D. Martínez-Gómez, G. D. Mendoza-Martínez, y A. Sunny. 2017 “Genetic

Variability and Structure of an Isolated Population of *Ambystoma altamirani*, a Mole Salamander That Lives in the Mountains of One of the Largest Urban Areas in the World.” *Journal of Genetics* 96, no. 6: 873–83.

- Heredia-Bobadilla, R. L., y A. Sunny. 2021 “Análisis De La Categoría De Riesgo De Los Ajolotes De Arroyos De Alta Montaña (Caudata: *Ambystoma*).” *ACTA ZOOLOGICA MEXICANA (N.S.)*, 1–19.
- Herron, J. C., y S., Freeman. 2014. *Evolutionary Analysis*. 5a. ed. Pearson: USA
- Hu, Y., Y. Nie, W. Wei, T. Ma, R. Van Horn, X. Zheng, y R. R. Swaisgood *et al.* 2017. "Inbreeding and inbreeding avoidance in wild giant pandas". *Molecular Ecology* 26 (20): 5793-5806.
- Huang, K., T. Wang, D. W. Dunn, P. Zhang, H. Sun, y B. Li. 2020. A generalized framework for AMOVA with multiple hierarchies and ploidies. *Integrative Zoology*.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2010). Subcuenca hidrográfica RH26Dp L. Texcoco y Zumpango. Cuenca R. Moctezuma. RH Pánuco [Datos Vectoriales Digitales]. Escala 1:50000. Ciudad. INEGI. Edición 2.0
- IUCN. 2022. The IUCN Red list of threatened species. Versión 2022-1. <https://www.iucnredlist.org/>. Tomado en enero 21, 2023.
- IUCN SSC Amphibian Specialist Group. 2020. *Ambystoma altamirani*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2020: e.T59049A53973139. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T59049A53973139.en>. Tomado en enero 21, 2023.
- Jancovich, J. K., Davidson, E. W., Parameswaran, N., Mao, J., Chinchar, G., Collins, J. P., Jacobs, B. L., y Storfer, A. 2005. Evidence for emergence of an amphibian iridoviral disease because of humanenhanced spread. *Molecular Ecology* 14: 213–224.
- Jehle R. y J. W. Arntzen. 2002. Microsatellite markers in amphibian conservation genetics. *Herpetol J.* 12:1-9
- Keller, L., F., y D. M. Waller. 2002 “Inbreeding effects in wild populations” *Trends in Ecology & Evolution (Amsterdam)* 17 (5): 230-41

- Leadle J. R. y R. J. Wittaker. 2011. *Conservation Biogeography*. Wiley-Blackwell, UK
- Leitwein, M., M. Duranton, Q. Rougemont, P. A. Gagnaire, y L. Bernatchez. 2020. "Using Haplotype Information for Conservation Genomics". *Trends In Ecology & Evolution* 35 (3): 245-258.
- Lemos-Espinal, Julio A. 1999. "Status Of Protected Endemic Salamanders (*Ambystoma: Ambystomatidae: Caudata*) In the Transvolcanic Belt of Mexico". *British Herpetological Society Bulletin*, no. 68: 1-4.
- Lemos-Espinal, J. A. 2003. *Rhyacosiredon altamirani*. Fichas diagnósticas para 10 especies de anfibios y reptiles mexicanos. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto W002. México. D.F.
- Lemos-Espinal, J. A., G. R. Smith, y G. A. Woolrich-Piña. 2015. "Diet Of Larval *Ambystoma altamiranoi* from Llano De Los Axolotes, Mexico". *Current Herpetology* 34 (1): 75-79.
- Lemos-Espinal, J. A., G. R. Smith, Á. Hernández-Ruíz, y R. Montoya Ayala. 2016a. "Natural History, Phenology, and Stream Use of *Hyla plicata* from the Arroyo Los Axolotes, State of Mexico, Mexico." *Current Herpetology* 35, no. 1: 8–13.
- Lemos-Espinal, J. A., G. R. Smith, Á. Hernández-Ruíz, y R. Montoya-Ayala. 2016b. "Stream Use and Population Characteristics of The Endangered Salamander, *Ambystoma altamirani*, From the Arroyo Los Axolotes, State of Mexico, Mexico". *The Southwestern Naturalist* 61 (1): 28-32.
- Lenhardt, P. P., C. A. Brühl, C. Leeb, y K. Theissinger. 2017. Amphibian population genetics in agricultural landscapes: Does viticulture drive the population structuring of the European common frog (*Rana temporaria*)? *PeerJ* 5: e3520
- Loo, J. A. 2011. *Manual De Genética De La Conservación: Principios Aplicados De Genética Para La Conservación De La Diversidad Biológica*. 1ª ed. Zapopan, Jalisco: Comisión Nacional Forestal.

- Manel, S., M. K. Schwartz, G. Luikart y P. Taberlet. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends Ecol. Evol.* 18 (4): 189-197
- Manni, F., E. Guérard y E. Heyer. 2004 “Geographic Patterns of (Genetic, Morphologic, Linguistic) Variation: how Barriers can be Detected by using Monmonier’s Algorithm”, *Human Biology* 76: 173-190.
- Martínez-Ugalde, E., Ávila-Akerberg, V., González Martínez, T.M. et al. 2002. The skin microbiota of the axolotl *Ambystoma altamirani* is highly influenced by metamorphosis and seasonality but not by pathogen infection. *anim microbiome* 4, 63
- McNeely J.A., K.R. Miller, W.V. Reid, R.A. Mittermeier y T.B. Werner. 1990. Conserving the world’s biological diversity. IUCN, World Resources Institute, Conservation
- Meirmans, P. G. 2015. Seven Common Mistakes in Population Genetics and How to Avoid Them.” *Molecular Ecology*, 24(13): 3223–31.
- Merrel, D. J. 1981. *Ecological genetics*. 1a ed. Minnesota. University of Minnesota Press: 5-12
- Monroy-Vilchis, O., R. L. Heredia-Bobadilla, M. M. Zarco-González, V. Ávila-Akerberg, y A. Sunny. 2019. “Genetic Diversity and Structure of Two Endangered Mole Salamander Species of the Trans-Mexican Volcanic Belt.” *Herpetozoa* 32: 237–48.
- Moritz, C. 1994 “Defining ‘Evolutionarily Significant Units’ for Conservation.” *Trends in Ecology & Evolution* 9 (10): 373–75.
- Nowoshilow, S., S. Schloissnig, J. F. Fei, et al. 2018. The axolotl genome and the evolution of key tissue formation regulators. *Nature* 554, 50–55
- Ochoa-Ochoa, L. M., J. E. Bezaury-Creel, L.B. Vázquez, y O. Flores-Villela. 2011. Choosing the survivors? A GIS-Based triage support tool for micro-endemics: Application to data for mexican amphibians. *Biol. Conserv.* 144 (11): 2710-2718

- Ochoa-Ochoa, L. M., P. Rodríguez, F. Mora, O. Flores-Villela, y R. J. Whittaker. 2012. Climate change and amphibian diversity patterns in Mexico. *Biol. Conserv.*, 150 (1): 94-102
- O'Neill, Eric M., Rachel Schwartz, C. Thomas Bullock, Joshua S. Williams, H. Bradley Shaffer, X. Aguilar-Miguel, Gabriela Parra-Olea, y David W. Weisrock. .2012 "Parallel Tagged Amplicon Sequencing Reveals Major Lineages and Phylogenetic Structure in the North American Tiger Salamander (*Ambystoma tigrinum*) Species Complex." *Molecular Ecology* 22 (1): 111–29.
- Parra-Olea, G., E. Recuero, y K. R. Zamudio. "Polymorphic Microsatellite Markers for Mexican Salamanders of the Genus *Ambystoma*." *Molecular Ecology Notes* 7, no. 5 (2007): 818–20.
- Parra-Olea, G., K. R. Z., E. Recuero, X. Aguilar-Miguel, D. Huacuz, y L. Zambrano. 2012. "Conservation Genetics of Threatened Mexican Axolotls (*Ambystoma*)." *Animal Conservation* 15, no. (1): 61–72.
- Parra-Olea, G., O., Flores-Villela, y C., Mendoza-Almeralla. 2014. Biodiversidad de anfibios en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85 (Supl. ene): S460-S466.
- Parsley, M. B., M. L. Torres, S. M. Banerjee, Z. J. C. Tobias, C. S. Goldberg, M. A. Murphy, y M. C. Mims. 2020. "Multiple Lines of Genetic Inquiry Reveal Effects of Local and Landscape factors on an amphibian Metapopulation". *Landscape Ecology*. 35 (2): 319-335.
- Patten, M.A. y B.D. Smith-Patten. 2008. "Biogeographical boundaries and Monmonier's Algorithm: A case study in the northern neotropics," *Journal of Biogeography*, 35(3): 407–416.
- Percino-Daniel R. 2008. Tesis de Maestría. Estructura genética y conservación de poblaciones de *Ambystoma taylori* y *Ambystoma velasci* que habitan en los lagos cráter de Puebla: análisis con microsatélites. UNAM. México, D.F.
- Percino-Daniel R., Recuero, E., Vázquez-Domínguez, E., Zamudio, K. R., Parra-Olea, G. 2016. All grown-up and nowhere to go: paedomorphosis and

local adaptation in *Ambystoma* salamanders in the Cuenca Oriental of Mexico. *Biological Journal of the Linnean Society*, 118 (3), 582–59.

- Pineda, E., y G. Halffter. 2004. Species diversity and habitat fragmentation: frogs in a tropical montane landscape in Mexico. *Biol. Conserv.*, 117, 499–508
- Piñero, D., Barahona, A., Eguiarte, L., Rocha-Olivares, A., Salas-Lizana, R. 2008. Pp. 415–445. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. En: J. Soberón, G. Halffter, J. Llorente (Comps.). Volumen I. Conocimiento actual de la Biodiversidad. Capital natural de México, Sarukhán, J. (Ed.). Capital Natural de México, CONABIO, México, D.F.
- Piry, S., G. Luikart, y J.M. Cornuet. 1999. “Computer note. bottleneck: A computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data,” *Journal of Heredity*, 90(4): 502–503.
- Qiu-Hong, W., H. Wu, T. Fujihara, y S.G. Fang. “Which Genetic Marker for Which Conservation Genetics Issue?” *Electrophoresis* 25 (14): 2165–76.
- QGIS.org, 2022. QGIS Geographic Information System. QGIS Association. <http://www.qgis.org>
- Ramírez-Bautista, A., Hernández-Salinas, U., García-Vázquez, U. O., Leyte-Manríque, A. y Canseco-Márquez, L. 2009. Herpetofauna del Valle de México: diversidad y conservación. México: UAEH. CONABIO
- Rentarí Alcántara M. “Breve revisión de los Marcadores Moleculares” Capítulo. En *Ecología Molecular*, editado por X. Aguirre, V. Souza, y L. E. Eguiarte, 1ª ed., 251–78. México D.F: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, 2007.
- Rico, Y. 2019. “Landscape Genetics of Mexican Biodiversity: A Review.” *Acta Universitaria* 29: 1–23.
- Rocha, M., y J. Gasca. “Ecología Molecular De La Conservación.” Capítulo. En *Ecología Molecular*, editado por X. Aguirre, V. Souza, y L. E. Eguiarte, 1ª ed., 251–78. México D.F: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, 2007.

- Rodríguez-Reyes, F.R 2009 Tesis de Licenciatura. Dinámica poblacional del ajolote *Ambystoma altamirani* en el Río Magdalena, D. F. UNAM
- Rohr, Jason R., y Brent D. Palmer. 2013. Climate Change, Multiple Stressors, and the Decline of Ectotherms. *Biol. Conserv.* 27 (4): 741-751.
- Saetre, Glenn Peter, y Mark Ravinet. *Evolutionary Genetics: Concepts, Analysis, and Practice*. Oxford: Oxford University Press, 2019.
- Sandberger-Loua, L., M.O. Rödel, y H. Feldhaar. 2017. Gene-Flows in the clouds: Landscape Genetics of a viviparous Montane Grass Toad in the Tropics *Conserv. Genet.* 19 (1): 169-180
- Santos-Barrera, Georgina, y Nicolás Urbina-Cardona. 2011. "The Role of the Matrix-Edge Dynamics of Amphibian Conservation in Tropical Montane Fragmented Landscapes." *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82 (2).
- Santos-Barrera. G., García, A., Calzada-Arciniega R. A., Pérez-Cervantes, N. C., Pacheco-Rodríguez, J. 2022. Herpetofauna in Risk of Extinction: Amphibians and Reptiles in Mexico, Critical Areas, and Conservation Strategies, Editores: Dominick A. DellaSala, Michael I. Goldstein, Imperiled: *The Encyclopedia of Conservation*, Elsevier: 275-288, ISBN 9780128211397
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. SEMARNAT 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Publicada el 30 de diciembre de 2010 en el Diario Oficial de la Federación. Texto vigente. Modificación DOF: 14/11/2019
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. SEMARNAT. 2018. Programa de Acción para la Conservación de las Especies de *Ambystoma* spp. SEMARNAT/CONANP México.
- Selkoe, Kimberly A., y Robert J. Toonen. 2006. "Microsatellites for Ecologists: A Practical Guide to Using and Evaluating Microsatellite Markers." *Ecology Letters* 9 (5): 615–29.
- Scheele B.C., F. Pasmans, L. F. Skerratt, L. Berger, A. Martel, W. Beukema, A. A. Acevedo, P. A. Burrowes, T. Carvalho, A. Catenazzi, I. De la Riva, *et al.* 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science*. 363(6434):1459-1463.

- Smalling, K.L., CA Eagles-Smith, R.A. Katz, y E.H.C. Grant. 2019. Managing the trifecta of disease, climate, and contaminants: searching for robust choices under multiple sources of uncertainty. *Biological Conservation* 236: 153-151
- Solórzano, S., García-Juárez, M., & O., Ken. (2009). Genetic diversity and conservation of the Resplendent Quetzal *Pharomachrus mocinno* in Mesoamerica. *Revista mexicana de biodiversidad*, 80(1), 241-248.
- Solórzano, S., P. D. Cuevas-Alducin, V. García-Gómez, y P. Dávila. 2014 Genetic Diversity and Conservation of *Mammillaria huitzilopochtli* and *M. supertexta*, Two Threatened Species Endemic of the Semiarid Region of Central Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85(2): 565–75.
- Smith, M. A. y D. M. Green. 2005. Dispersal and the metapopulation paradigm in amphibian ecology and conservation: Are all amphibian populations metapopulations? *Ecography* 28(1): 110-1284.
- Sunny, A., O. Monroy-Vilchis, V. Fajardo, U. Aguilera-Reyes. 2014a. Genetic diversity and structure of an endemic and critically endangered stream river salamander (Caudata: *Ambystoma leorae*) in Mexico. *Conservation Genetics*, 15, 49–59
- Sunny, A., O. Monroy-Vilchis, C. Reyna-Valencia, y M. M. Zarco-González. 2014b. Microhabitat types promote the genetic structure of a micro-endemic and critically endangered mole salamander (*Ambystoma leorae*) of Central Mexico. *PLOS ONE*. 9(7), e103595
- Szpiech, Z. A., Jakobsson, M., y Rosenberg, N. A. 2008. ADZE: A rarefaction approach for counting alleles private to combinations of populations. *Bioinformatics*, 24, 2498–2504
- Taylor B. y Dizon E. 1999. First policy the science: why a management unit based solely on genetic criteria cannot work. *Molecular Ecology* 8(1): S11-S16
- Taylor, B., D. Skelly., L. K. Demarchis, M. D. Slade, D. Galusha, y O. M. Rabinowitz. 2005. Proximity to pollution sources and risk of amphibian limb malformation. *Environ Health Perspect.* 113 (11): 1497-1501

- Thompson, M. E., A.J Nowakowski., y M. A. Donnelly. 2016. The importance of defining focal assemblages when evaluating amphibian and reptile responses to land use. *Biol. Conserv.*, 30(2): 249
- Uribe-Peña, Z., Ramírez-Bautista, A. y Casas Andreu, G. (1999). Anfibios y reptiles de las serranías del Distrito Federal, México. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Van Oosterhout C., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills, y Peter Shipley. 2004. "Micro-Checker: Software for Identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data". *Molecular Ecology Notes* 4 (3): 535-538.
- Vázquez-Trejo, M. 2020. Tesis de Licenciatura. 2020. Ecología y conocimiento tradicional del ajolote de montaña (*Ambystoma altamirani*) en el municipio de Isidro Fabela, Estado de México, México. UNAM
- Van Oosterhout C., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills y P. Shipley. 2004 MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes* 4: 535–538
- Velo-Antón, G., Parra, J. L., G. Parra-Olea, y K. R. Zamudio, K. R. 2013. Tracking climate change in a dispersal-limited species: Reduced spatial and genetic connectivity in a montane salamander. *Molecular Ecology*, 22(12): 3261–3278.
- Villamarín, F., Leandro J.C.L. Moraes, C. R. Ferrara, I. L. Kaefer, F. P. Werneck, y Rafael de Fraga. "Ecology and Conservation of Wetland Amphibians and Reptiles." *Encyclopedia of Inland Waters*, 2022, 256–66.
- Villanueva-Camacho, Zeltzin A., G. R. Smith, R. Montoya-Ayala, y Julio A. Lemos-Espinal. 2020. "Distribution and Population Structure of *Ambystoma Altamirani* from the Llano de Lobos, State of México, Mexico." *Western North American Naturalist* 80(2).
- Villareal-Hernández, V., J. A. Lemos-Espinal, G. R. Smith, y Raymundo Montoya-Ayala. 2019 "Natural history observations of *Ambystoma altamirani* and *Dryophytes plicatus* at Sierra De Las Cruces, State of México, Mexico." *The Southwestern*

- Villarreal-Hernández, V, G. R. Smith, R. Montoya Ayala, y J. A. Lemos-Espinal. 2020. "Abundance, Distribution, Population Structure, and Substrate Use of *Ambystoma altamirani* along the Arroyo Los Axolotes, State of Mexico, Mexico Abundance, Distribution, Population Structure, and Substrate Use of *Ambystoma altamirani* along the Arroyo Los Axolotes, State of Mexico, Mexico." *Herpetological Conservation and Biology* 15, (1.): 188–97
- Vitt, Laurie J., y J. P. Caldwell. 2014. *Herpetology an Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. San Diego, California: Academic Press.
- Vizmanos-Pérez José Luis. *Claves de la genética de poblaciones: Los mecanismos genéticos de la evolución*. Barcelona: Elsevier España, 2014.
- Voss, S. R., H. H. Epperlein, y E. M. Tanaka. 2009. "Ambystoma Mexicanum, the Axolotl: A Versatile Amphibian Model for Regeneration, Development, and Evolution Studies." *Cold Spring Harbor Protocols*, 8
- Voss S. R., M. Ryan-Woodcock, y L. Zambrano. 2015 A Tale of Two Axolotls, *BioScience*, 65 (12): 1134–1140
- Waldman B. y M. Tocher. 1997. Behavioural ecology, genetic diversity and declining amphibian populations. In: *Behavioural Ecology and Conservation Biology* (ed. Caro T.): 394-448 Oxford: Oxford University Press
- Wang, I. J. 2009. Fine-scale population structure in a desert amphibian: Landscape genetics of the Black Toad (*Bufo exsul*). *Mol. Ecol.* 18 (18): 3847-3856
- Watterson, G. A. 1975. *On the number of segregating sites in genetical models without recombination*. 7(2): 0–276.
- Weisrock D.W, Shaffer HB, Storz BL, Storz SR, Voss SR. 2006. Multiple nuclear gene sequences identify phylogenetic species boundaries in the rapidly radiating clade of Mexican ambystomatid salamanders. *Molecular Ecology*. 5(9):2489-503
- Whitfield, S. M., K. R. Lips, y M. A. Donnelly. 2016. Amphibian decline and conservation in Central America. *Copeia* 104 (2): 351-379
- Williams, S. T., J. P. Elbers, J. P., y S. S. Taylor. 2021. Population structure, gene flow, and sex-biased dispersal in the reticulated flatwoods salamander

(*Ambystoma bishopi*): Implications for translocations. *Evolutionary Applications*, 14, 2231– 2243

- Woolrich-Piña G. A., G. R. Smith, J. A. Lemos-Espinal, A. B. Estrella Zamora, R. Montoya-Ayala. 2017 Observed localities for three endangered, endemic Mexican ambystomatids (*Ambystoma altamirani*, *A. leorae*, and *A. rivulare*) from central Mexico. *The Herpetological Bulletin*. 135: 12-15
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*, 28, 114-138.
- Wright, S. 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics*. 31 (1): 39
- Wright, S. 1965. The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution*, 19: 395-420.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago.
- Yannic, G., V. Helfer, R. Sermier, B. R: Schmidt y L. Fumagalli. 2021. Fine scale genetic structure in fire salamanders (*Salamandra salamandra*) along a rural-to-urban gradient. *Conservation Genetics*. 22: 275–292

7 APÉNDICES

7.1 APÉNDICE I. -Documentos de acuerdo con SEDEMA



GOBIERNO DE LA
CIUDAD DE MÉXICO

SECRETARÍA DEL MEDIO AMBIENTE

DIRECCIÓN GENERAL DEL SISTEMA DE ÁREAS
NATURALES PROTEGIDAS Y ÁREAS DE VALOR AMBIENTAL
DIRECCIÓN DE ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS Y ÁREAS
DE VALOR AMBIENTAL



Ciudad de México, a 16 de agosto de 2022
SEDEMA/DGSANPAVA/DANPAVA/1036/2022

DR. FRANCISCO ALBERTO RIVERA ORTÍZ
LABORATORIO DE ECOLOGÍA MOLECULAR,
UBIPRO, FES IZTACALA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
francisco.rivera@iztacala.unam.mx
PRESENTE

En atención y respuesta a su escrito, asignado el 07 de junio del 2022, medio por el cual solicita "*manifiesto mi interés en dirigir a un alumno en el desarrollo de su tesis a nivel licenciatura, en el tema particular de genética poblacional, partiendo de la información disponible del tema en comento, particularmente: [...]*". Mismo, en el que se menciona: "*con estos datos será posible el desarrollo de una tesis de genética poblacional (diversidad, diferenciación y estructura genética), así como de genética de la conservación (Unidades de manejo/ MUS)*".

Al respecto, le informo que esta Dirección a mi cargo participa actualmente en dos proyectos que incluyen dentro de sus líneas de trabajo el tema de genética, los cuales se describen brevemente a continuación:

1. Proyecto "*Conservación del Ajolote de Arroyo de Montaña en la Ciudad de México*", ejecutado en su primera etapa de marzo a diciembre del 2021 en el Área Natural Protegida (ANP) Parque Nacional Desierto de los Leones y Reserva Ecológica Comunitaria (REC) San Nicolás Totolapan. A grandes rasgos, el proyecto estuvo constituido por: a) el monitoreo biológico de la especie y su hábitat en dos cauces; y, b) la implementación de una Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) en el Desierto de los Leones. Como parte de las actividades de monitoreo se realizó la toma de 58 muestras de ADN de *Ambystoma altamirani*, las cuales fueron amplificadas con la técnica de PCR. Actualmente se ejecuta la segunda etapa de este proyecto con el objetivo dar continuidad al diagnóstico del estado actual de las poblaciones silvestres y de su hábitat, así como del manejo bajo cuidado humano en la UMA. Así mismo identificar otros factores de presión para la especie, entre ellas las Especies Exóticas Invasoras y ejecutar acciones para su control.
2. Proyecto "*Estudios para la conservación de la biodiversidad en la Ciudad de México: ajolote de arroyo de montaña (Ambystoma altamirani) como especie sombrilla para la protección de los ecosistemas*", ejecutado desde marzo del 2022 y hasta la fecha en el Suelo de Conservación de la Zona Poniente de la Ciudad de México, específicamente en las ANP Parque Nacional Desierto de los Leones y Reserva Ecológica Comunitaria San Nicolás Totolapan, así como en la zonificación normativa Forestal de Conservación (FC). Este proyecto es ejecutado por la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X) a través del Centro de



GOBIERNO DE LA
CIUDAD DE MÉXICO

SECRETARÍA DEL MEDIO AMBIENTE

DIRECCIÓN GENERAL DEL SISTEMA DE ÁREAS
NATURALES PROTEGIDAS Y ÁREAS DE VALOR AMBIENTAL
DIRECCIÓN DE ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS Y ÁREAS
DE VALOR AMBIENTAL

Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuemanco (CIBAC), con el Dr. José Antonio Ocampo Cervantes como Responsable Técnico, y a grandes rasgos, el proyecto está constituido por cuatro componentes a) componente I: Manejo y conservación del hábitat; b) componente II: Estudio de la especie *in situ*, c) componente III: Establecimiento y manejo de colonias bajo cuidado humano con fines de conservación y d) componente IV: Producción científica, formación profesional, transferencia de tecnología. Dentro de estos componentes se contempla dar continuidad en el diagnóstico de genética, así como la elaboración y presentación de una tesis de licenciatura.

No omito mencionar que estos proyectos de conservación del Ajolote de Arroyo de Montaña (*A. altamirani*), participa la Secretaría del Medio Ambiente (SEDEMA) del Gobierno de la Ciudad de México, a través de las siguientes áreas: Dirección General del Sistema de Áreas Naturales Protegidas y Áreas de Valor Ambiental, Dirección General de la Comisión de Recursos Naturales y Desarrollo Rural, Dirección General de Zoológicos y Conservación de Fauna Silvestre y la Dirección General de Coordinación de Políticas y Cultura Ambiental.

En este sentido, para esta Dirección a mi cargo, la vinculación con el sector académico es prioritario, ya que esta sinergia permite la construcción del conocimiento en que se fundamenta la conservación y manejo de la biodiversidad, por tal motivo consideramos sumamente valiosa su colaboración como director de un alumno en el desarrollo de su tesis a nivel licenciatura en la temática de genética poblacional, ya que esto permitirá cumplir con los objetivos del proyecto antes mencionado, así como con acciones y objetivos específicos contenidos en el Programa de Conservación y Manejo del Parque Nacional Desierto de Los Leones, dentro de los Subprogramas: Restauración, Componente de Recuperación de Especies Prioritarias; Conocimiento, Componente de Fomento a la Investigación y Generación de Conocimiento; y Gestión, Componente de Coadministración, Concurrencia y Vinculación con Iniciativas Locales y Regionales; y en el Plan Rector de las Áreas Naturales Protegidas en su Regla 51. "La SMA, la DGCORENA y los responsables de las ANP fomentarán entre universidades, instituciones de investigación e investigadores individuales, la realización de la investigación prioritaria, estratégica o necesaria para la generación de conocimiento sobre la conservación y el manejo de las ANP y su biodiversidad."

Por lo anterior designó como enlace al Arq. Víctor Alejandro González Camacho, Líder Coordinador de Proyectos, responsable de las ANP Parque Nacional Desierto de los Leones y Reserva Ecológica Comunitaria San Nicolás Totolapan, quien dará seguimiento y las facilidades necesarias para coordinar y ejecutar de manera satisfactoria la actividad académica y con quién podrá comunicarse para coordinar el envío de la información solicitada, cuyos datos de contacto son los siguientes: teléfono 55 3099-0011 y correo electrónico gonzalex.sma@gmail.com.

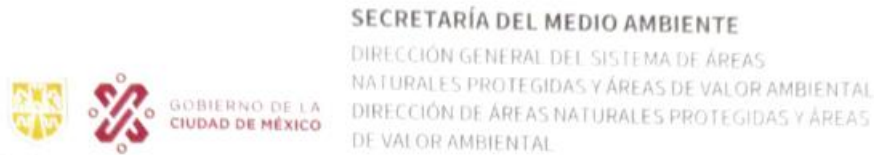
Al finalizar el proyecto, se deberá entregar una copia de los resultados obtenidos a esta Dirección, con la intención de que la misma pueda ser utilizada para la toma de decisiones.

Lo anterior con fundamento en el Manual Administrativo de la Secretaría del Medio Ambiente MA-24/011119 D-SEDEMA-20/010119, publicado en la Gaceta Oficial de la Ciudad de México el 12 de diciembre de 2019, y el

Av. Año de Juárez 1900, Colonia Quirino Mendoza,
Pueblo de San Luis Tlaxiatlalco, Alcaldía
Xochimilco, C. P. 16630, Ciudad de México.
T. 15471078

Página 2 de 3

CIUDAD INNOVADORA
Y DE DERECHOS



Reglamento Interior del Poder Ejecutivo, Artículo 190, el cuál manifiesta las atribuciones específicas de esta Dirección, entre ellas:

"I. Establecer, coordinar y ejecutar estudios y acciones en los términos y mediante los procedimientos que establecen las disposiciones jurídicas aplicables, los criterios y lineamientos para promover, comentar, proteger, desarrollar, restaurar, conservar, administrar el uso, aprovechamiento, explotación y restauración de los recursos naturales e infraestructura de las áreas naturales protegidas, áreas de valor ambiental áreas verdes urbanas y la red de infraestructura verde de la Ciudad de México." ...[...].

[...]... "IV. Promover y coordinar la participación de las instituciones científicas y académicas, así como de los sectores social y privado, en la realización de estudios y programas para la restauración ecológica, mantenimiento, protección, fomento y manejo de los ecosistemas de las áreas naturales protegidas, áreas de valor ambiental, áreas verdes urbanas y la red de infraestructura verde, ...[...].

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

ING. CARLOS MANUEL VÁZQUEZ MARTÍNEZ
DIRECTOR

C.c.c.e.p. **Ing. Rafael Obregón Vitoria**. - Director General del Sistema de Áreas Naturales Protegidas y Áreas de Valor Ambiental en la SEDEMA. Presente. ccc.dgsanpava.sma@gmail.com
Ing. Rubén Ulloa Campos. - Subdirector Técnico de Planes de Manejo de la DANPAVA. Presente. ulloact4@hotmail.com, sufi.anps-sedema@gmail.com
Arq. Víctor Alejandro González Camacho. - Líder Coordinador de Áreas Naturales Protegidas Zona Poniente. Presente. gonzalex.sma@gmail.com

Elaboró: VAGC
Arq. Víctor Alejandro González Camacho

Revisó: RUC
Ing. Rubén Ulloa Campos

Autorizó: CMVM
Ing. Carlos Manuel Vázquez Martínez

DG:SANPAVA: 22-000849

7.2 APÉNDICE II.- Datos de Microsatélite en formato GENEPOP.txt

Título → Title line:MicrosInputMicrocheckerAudelAmbystomaaltamirani

AT521
 AT52115
 AT52143
 AT522
 AT5220
 AT5234
 AT526
 AT603

Locus → AT521

Genotipo (alelo/alelo)
 A/B= AAABBB

Individuo → 401401

Localidades (Pop|MA, PO, TE)

Pop AT521

MA, 401401 234234 331331 240244 302306 373432 162166 244267
 MA, 401409 234234 331331 240244 302302 373431 162162 240240
 MA, 395401 234234 331341 240248 298298 374431 162162 240261
 MA, 401401 234234 331331 240248 302313 374432 162166 240261
 MA, 395401 234234 331331 240244 269313 374431 166166 240261
 MA, 395401 234234 331331 244244 300300 374432 162166 240240
 MA, 396401 234234 331331 217244 302302 374432 162166 240240
 MA, 395401 235235 331331 244244 269298 374432 162162 244244
 MA, 395401 235235 331331 240244 313313 000000 162162 240261
 MA, 401401 234234 341341 244244 298298 374431 162162 240240
 MA, 401401 234234 331341 248248 298298 374432 162162 240240
 MA, 395409 234234 331331 244244 313313 000000 162162 240240
 MA, 401401 234234 331341 244244 269302 374432 162162 244261
 MA, 401401 234234 331331 244244 269298 374432 162162 240240
 MA, 396401 234234 331331 244248 302313 374432 162162 240267
 MA, 401401 234234 331331 248248 269300 374432 162162 240240
 MA, 395401 234234 331341 244244 300317 374431 162162 244267
 MA, 401401 234234 331331 240244 269300 374432 162166 240240
 MA, 401409 234234 341341 240244 298298 374432 162162 240240
 MA, 401409 234234 331341 248248 269277 374432 162162 244261
 MA, 403403 234234 331331 244248 269317 000000 162162 244244
 MA, 401409 234234 331335 244248 298298 374432 162166 240261
 MA, 401401 234234 331335 244244 298298 374432 162162 261261
 MA, 401401 234234 331331 217244 302302 374432 162162 240240
 MA, 401409 234234 341341 244244 269300 373373 162162 240240
 MA, 401401 234234 331341 214228 300306 374431 162166 240240
 MA, 401407 234234 331331 217244 269302 374432 162166 240240
 MA, 401401 234234 331331 240244 306313 374432 162162 244259
 MA, 401401 234234 331341 217244 298302 374432 162162 240240
 MA, 000000 000000 000000 245245 279306 374432 162166 240240

Pop

PO, 401401 234234 335335 244244 277302 374431 162162 244267
 PO, 401401 234234 335335 240240 277302 374432 162162 234263
 PO, 401401 000000 335335 240244 277302 373431 166166 234244
 PO, 403403 000000 335335 240244 277277 374431 162166 234267
 PO, 401401 234234 335335 240240 277302 374432 162162 263263
 PO, 403403 234234 335335 240240 302302 374432 162162 234244
 PO, 401403 234234 335335 240240 277302 374431 162162 234234
 PO, 403403 234234 335335 240240 277277 377377 162162 234263
 PO, 401401 000000 335341 240240 302302 374432 162166 263263
 PO, 401401 234234 335335 240244 302302 374432 162166 234263
 PO, 403403 234234 331335 240244 277302 374431 162162 244263

Pop

TE, 401401 234234 331331 240244 302302 374431 166166 240265
 TE, 401401 234234 331331 240244 302302 374432 166166 240261
 TE, 401407 234234 331331 240244 302302 374374 166166 240240
 TE, 401407 234234 331331 244244 302302 374431 166166 265265
 TE, 401401 234234 331331 244244 302302 374432 166166 240261
 TE, 401401 234234 331331 240244 302302 374432 166166 240265
 TE, 401401 234234 331331 244244 302302 374432 166166 240261
 TE, 401401 234234 331331 240244 302302 374374 166166 240240