



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

**DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y TEMPORAL DE
MICROSATÉLITES DE LAS BALLENAS
JROBADAS, *Megaptera novaeangliae*,
EN EL PACÍFICO MEXICANO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGÍA ANIMAL)**

PRESENTA

María de Jesús Guadalupe Vázquez Cuevas

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Luis Medrano González.

MÉXICO, D.F.

MAYO DE 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



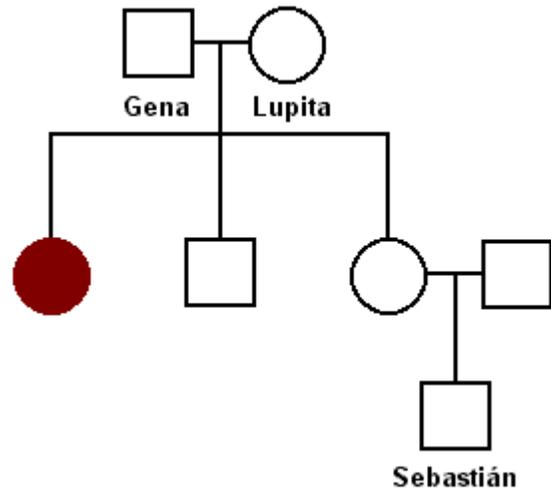
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.

A



Con todo mi amor

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer de manera profunda a las siguientes personas e instituciones por haber facilitado la elaboración de este trabajo.

A Luis Medrano González, amigo y maestro, tanto por las enseñanzas como por la confianza y la amistad.

A Charles Scott Baker quien amablemente me permitió realizar mi trabajo en su laboratorio en la Universidad de Auckland, Nueva Zelanda.

A Jorge Urbán Ramírez por proporcionarme sus muestras de piel de ballena jorobada recolectadas en Los Cabos para realizar el presente estudio, por revisar cuidadosamente mi escrito y ser uno de mis sinodales.

A Justine Murrel por facilitarme extractos de DNA de rorcual jorobado para esta tesis.

A Rosalba Robles Saavedra por compartir los extractos de DNA de ballena jorobada para hacer mi trabajo.

A Jeff Jacobsen por recolectar algunas de las muestras de piel de ballena jorobada en Isla Socorro que se usaron en esta investigación.

A mis sinodales Luis Eguiarte Fruns, Rosario Rodríguez Arnaíz y Manuel Uribe Alcocer por revisar detalladamente mi trabajo y por hacerme importantes observaciones que mejoraron mi trabajo.

Al Grupo de Mastozoología Marina por haber recolectado muestras de piel de ballenas jorobadas.

A José David Vázquez Cuevas por auxiliarme con las matemáticas utilizadas en este trabajo y con los programas de computo.

A Ernesto Vicente Vega Peña, por su valiosa ayuda en la elaboración de esta tesis.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por mi formación académica y por permitir desarrollarme como profesionista dentro de ella.

Al CONACYT por el apoyo económico de beca y los proyectos de investigación que permitieron realizar esta investigación.

A la Armada de México por su incondicional apoyo logístico.

Al Cetmar 6, Nayarit por el apoyo logístico.

A todos, nuevamente muchas gracias.

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	7
La ballena jorobada.....	7
Genética de la ballena jorobada.....	12
Planteamiento de la investigación.....	16
MÉTODOS	17
Recolección de las muestras.....	17
Extracción de DNA.....	22
Amplificación de microsatélites.....	22
Determinación de alelos.....	25
Análisis de datos.....	27
RESULTADOS	30
Linajes de marcos de repetición.....	30
Polimorfismo.....	30
Alelos exclusivos.....	32
Frecuencias alélicas.....	32
Diversidad.....	37
Distribución espacio-temporal.....	43
Frecuencias genotípicas.....	53
Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	54
Individuos con microsatélites idénticos.....	54
Comparación con otras poblaciones y otras especies.....	56
DISCUSIÓN	65
CONCLUSIONES	74
AGRADECIMIENTOS	76
REFERENCIAS	77

RESUMEN

Las ballenas jorobadas que se reproducen cada invierno en el Pacífico mexicano se congregan en dos zonas: la costa continental y el Archipiélago de Revillagigedo. Los rorcuales jorobados de estas zonas parecen tener patrones de arribo migratorio específicos por clases de sexo y de línea materna. Puesto que el grado y patrones de dispersión de machos y hembras de esta especie son diferentes, para determinar la estructura genética poblacional global de estos cetáceos, se analizó la distribución en tiempo y espacio de cuatro microsatélites en las ballenas jorobadas en tres localidades del Pacífico mexicano (Los Cabos, BCS, Bahía de Banderas, Jal-Nay y la Isla Socorro, Archipiélago de Revillagigedo). Se analizaron los loci GATA 28, GATA 53, GATA 417 y TAA 31 en 285 muestras de piel de ballena obtenidas de 1990 a 1996. Se hallaron 80 alelos para los cuatro loci lo que representa una alta riqueza en tanto que el Pacífico mexicano es un área en la que confluyen ballenas jorobadas de diferentes zonas de alimentación en el Pacífico norte. Se registraron 19 alelos únicos para el Pacífico mexicano de los cuales siete se hallaron en la Isla Socorro y éstos podrían utilizarse para identificar las zonas de alimentación de los rorcuales que se reproducen en esta zona. Las ballenas jorobadas de Los Cabos presentan los mayores índices de polimorfismo por ser una zona tanto de tránsito como de destino migratorio. En el conjunto de todos los individuos examinados se observa que el grado de polimorfismo para los loci tetrameros GATA es proporcional al tamaño molecular. Los microsatélites de las ballenas jorobadas que se reproducen en el Pacífico mexicano de manera general están en equilibrio de Hardy-Weinberg, con ligeros alejamientos por efecto Wahlund o exogamia. Las ballenas en aguas adyacentes a la Isla Socorro se distinguen como un grupo distinto de los rorcuales de las zonas continentales. En la región continental asimismo se observa una considerable diferenciación de las ballenas jorobadas del invierno temprano. Las ballenas jorobadas de todas las zonas en el invierno medio y tardío muestran mayor polimorfismo y menos diferenciación. Esto sugiere un recambio de ballenas jorobadas en las zonas continentales luego del invierno temprano seguido de dispersión de ballenas provenientes de diferentes zonas de alimentación en todo el Pacífico mexicano. Las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano mostraron un polimorfismo mayor al reportado para poblaciones de estos rorcuales en otras partes del mundo (con excepción de GATA 28) y además son las que presentan los mayores polimorfismos para esos loci de entre todos los cetáceos hasta hoy analizados.

ABSTRACT

Humpback whales wintering in the Mexican Pacific breed in two main areas: the mainland coast and the surroundings of the Revillagigedo Islands. These whales seem to have arrival patterns specific by sex and mitochondrial DNA lineages. Thus, the distribution in time and space of four microsatellite loci was analysed in order to know the population nuclear genetic structure of humpback whales in the Mexican Pacific. The loci GATA 28, GATA 53, GATA 417 and TAA 31 were analysed in 293 samples collected between 1990 and 1996 in Los Cabos, Baja California Sur, Bahía de Banderas, Jalisco-Nayarit and Isla Socorro, Revillagigedo Archipelago. A total of 80 alleles were found. This is a high richness as whales from different feeding areas from the North Pacific congregate in Mexican waters. Nineteen exclusive alleles were recorded for the Mexican Pacific being seven from Isla Socorro, which can be used to identify the feeding grounds of humpback whales from this breeding area. A higher polymorphism was found in Los Cabos since this is a ground for passage and arrival of humpback whales. Polymorphism in the GATA tetramers is proportional to molecular size. The Mexican humpback whale microsatellites appear to be near to Hardy-Weinberg equilibrium with small deviations caused by Wahlund effect and exogamy. The humpback whales in Isla Socorro appear as a different group from the one of the mainland grounds. In the mainland coast, the humpback whales show differentiation during the early winter. In all the Mexican breeding grounds and throughout the middle and late winter, humpback whales show a higher polymorphism and lower differentiation. All this suggests that there is an exchange of whales in the mainland coast grounds by the early winter followed by dispersion across the Mexican Pacific of whales arriving from different feeding areas. The Mexican humpback whales showed a polymorphism bigger than the reported in other world-wide humpback whales populations (except for GATA 28) and another cetaceans.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos ancestrales el hombre ha capturado cetáceos para obtener alimento y aceite. Es probable que el hombre de las cavernas haya cazado delfines y otros odontocetos pequeños como lo muestran los dibujos en las rocas de Røddøy en Noruega y que datan aproximadamente de 2200 años a.C. (Slijper, 1979). Los primeros balleneros fueron vikingos noruegos, seguidos más tarde por pueblos costeros como los vascos franco-españoles, quienes en el siglo X iniciaron formalmente la cacería de ballenas como una industria, siendo las ballenas francas del norte, *Eubalaena glacialis* y las de Groenlandia, *Balaena mysticetus*, los primeros misticetos en ser capturados. La caza de ambas especies fue tan intensa que a inicios del siglo XX ambas especies casi habían desaparecido (Clark, 1969; Slijper 1979; Bonner, 1980; Ellis, 2002a; Clapham y Baker, 2002). Pero no fueron las únicas especies en ser explotadas, al irse agotando estas ballenas hubo que beneficiarse de otras especies.

En 1860, cuando distintas especies de grandes cetáceos se encontraban al borde de la extinción, y junto con ellas la industria ballenera, los noruegos dieron un nuevo ímpetu a esta industria utilizando barcos de vapor y desarrollando un arpón que podía dispararse desde un cañón instalado en la proa de sus barcos. Esto permitió atrapar a los rorcuales, que con los métodos de caza tradicionales no podían ser capturados, ya que nadaban más rápido que las embarcaciones, dificultando así su captura. De esta forma, las ballenas jorobadas, *Megaptera novaeangliae*, fueron los primeros rorcuales en ser capturados industrialmente.

Antiguamente en el Pacífico Norte, las ballenas jorobadas solamente eran capturadas por pueblos aborígenes en Japón, la Península Chukotski, Alaska, las Islas Aleutianas, las Islas Kodiak, Vancouver y la Península Olímpica (Ellis, 2002b). Después, en los diferentes auge de la industria ballenera, algunos rorcuales jorobados eran atrapados ocasionalmente durante la caza de ballenas francas, ballenas grises y cachalotes (Rice, 1977). Con el advenimiento de los arpones disparados desde cañones, las ballenas jorobadas se convirtieron en los rorcuales por excelencia para ser apresados por las flotas balleneras costeras, debido a que

son las menos veloces de todos ellos y a que realizan migraciones costeras, teniendo como única desventaja el hundirse una vez muertas.

En 1906 operó el primer buque factoría que permitió inyectar aire a los rorcuales muertos para evitar su hundimiento, subirlos a bordo mediante rampas colocadas en la popa y procesarlos en alta mar. Así, los barcos factoría facilitaron estancias más prolongadas en el océano para un mayor tiempo de cacería y con ello la disminución de las poblaciones de ballenas jorobadas. Antes de la explotación comercial, la población mundial de ballenas jorobadas era de aproximadamente 125000 animales, habiendo aproximadamente 10000 en el Atlántico Norte, 100000 en el hemisferio sur y 15000 en el Pacífico Norte (NMFS, 1991). De 1905 a 1910 se capturaron en todo el Pacífico, incluyendo aguas mexicanas, de 500 a 1000 rorcuales jorobados por año, así que para 1911 se habían matado alrededor de 5000 de estos misticetos y para 1920 la población constaba de cerca de 6000 ballenas. Pese a que la población original se redujo a casi un tercio, entre 1960 y 1965 se cazaron otros 5000 animales quedando únicamente 1000 ballenas jorobadas en todo el Pacífico Norte (Rice, 1977). Más éste no fue el único océano donde se explotó a esta especie. Si bien los datos estadísticos de captura no son precisos, se ha calculado que antes de la Segunda Guerra Mundial en el hemisferio sur se capturaron alrededor de 27500 ballenas jorobadas y después de ella, 381000, desde aguas adyacentes a la Antártica hasta aguas ecuatoriales (Dawbin, 1997). De esta forma, los rorcuales jorobados se convirtieron en la más rara de las especies cosmopolitas después de *E. glacialis*.

La historia de la caza de las diferentes especies de grandes cetáceos indica que ocurrió de manera sucesiva y cuando se sobreexplotaba una especie, se buscaba otra con que sustituirla. Pero a pesar de esta sustitución de especies, la industria ballenera no siempre fue continua pues tuvo sus altibajos debido a la escasez de ballenas, el alto costo de mantener un barco ballenero, las guerras, la iniciación de nuevas empresas más redituables, el avance tecnológico y la sustitución de productos naturales por artificiales. Hasta mediados del siglo XIX, las épocas de poca captura de ballenas permitieron que estos animales se recuperaran en cierta medida. Sin embargo, con el advenimiento de la tecnología en este siglo, esto ya no fue posible, así que las poblaciones de misticetos disminuyeron cada vez más rápido, sobre todo las de ballena azul y de ballena jorobada. Debido a esta disminución, la extinción de las ballenas estaba cerca y con ella, la de la industria

que las había llevado hasta ese punto. Así que para cuidar el recurso, desde 1924 se crearon y sucedieron diversas asociaciones de protección y regulación de la cacería de cetáceos hasta que en 1946 se formó la Comisión Ballenera Internacional.

Puesto que durante la caza comercial las ballenas jorobadas casi se extinguieron, la Comisión Ballenera Internacional decretó el cese de su captura comercial y estableció su protección en 1965 en el Atlántico norte y en 1966 en el Pacífico norte. De esta forma los rorcuales jorobados se convirtieron en la segunda especie de misticeto protegida, después de la ballena azul (*Balaenoptera musculus*), permitiéndose la cacería aborigen únicamente para consumo local. En México, las ballenas jorobadas están protegidas por la Norma Oficial Mexicana 059-ECOL pero todavía se les considera amenazadas debido a su interacción con los humanos. En fechas recientes se ha estimado que hay aproximadamente 10600 ballenas jorobadas en el Atlántico norte, 17000 en el hemisferio sur y entre 6000 y 8000 en el Pacífico norte (Perry *et al.*, 1999), de las cuales, unas 1600 a 2000 invernan en aguas del Pacífico mexicano (Urbán *et al.*, 1999).

Para cuando se dio el cese definitivo de caza de cetáceos, la industria ballenera había causado el mayor de los problemas para estos animales: redujo sus poblaciones a unos pocos individuos a partir de los cuales debían recuperarse. Pudiera esperarse que con la reducción en el número de animales también hubiera una disminución en la variación genética. No obstante, en el caso de las ballenas jorobadas, al parecer esto no ocurrió. Para el Pacífico Norte, Medrano y colaboradores (2001) calcularon la pérdida de variación genética del mtDNA debida al exceso de capturas. En las peores circunstancias para las ballenas jorobadas, esto es, 250 hembras y 250 machos durante diez generaciones (100 años), la pérdida de variación genética del mtDNA por causa humanas ha sido del 4%. Puesto que para reducir sustancialmente la variación genética se necesita un tamaño efectivo poblacional muy pequeño, después de la caza indiscriminada debieron quedar quince hembras y quince machos en el Pacífico Norte para disminuir en cien años al 50% la variación genética del mtDNA. Aunque la pérdida de variación genética del mtDNA por sobrexplotación humana todavía no sea de consideración, las ballenas jorobadas, al igual que otros mamíferos marinos, tienen un genoma conservado que evoluciona lentamente, lo que también podría limitar el crecimiento poblacional por el posible efecto de endogamia de continuar con otras

actividades humanas que impidan la recuperación poblacional de esta especie. Las fuentes más frecuentes de daño y mortandad por causa humana, además de la caza indiscriminada, son el incremento del ecoturismo en sus zonas de distribución, la competencia de las ballenas con las pesquerías por presas y el enmallamiento incidental, la perturbación por ruido, las actividades náuticas junto con las colisiones con barcos, la contaminación, la degradación o pérdida de su hábitat por el desarrollo urbano costero y el cambio climático que afectará a largo plazo sus áreas de distribución (NMFS, 1991). Con la protección de las ballenas jorobadas se pretende en veinte años (a partir de 1991) aumentar el número de individuos hasta alcanzar el 60% del total existente hasta antes de la captura comercial (NMFS, 1991), por lo que resulta entonces importante evaluar el estado actual de tres las poblaciones que hoy día se reconocen: la del Pacífico Norte, la del Atlántico Norte y la del Océano Austral. Para tal finalidad se requieren diferentes tipos de estudios, entre ellos de genética, que proporcionen datos sobre la variación existente para comprender la estructura y dinámica de sus poblaciones, sus relaciones filogenéticas e historia reciente, las posibilidades de recuperación de estos animales y su respuesta evolutiva a las actividades humanas (Hoelzel y Dover, 1987; Lande, 1991; Palumbi *et al.*, 1991; Medrano-González, 1993).

Las ballenas jorobadas del Pacífico norte emigran cada invierno a zonas más cálidas para reproducirse. Entre las zonas de reproducción de los rorcuales jorobados de dicha población se encuentran tres áreas del Pacífico mexicano: Los Cabos (Baja California Sur), Bahía de Banderas (Jalisco-Nayarit) y el Archipiélago de Revillagigedo. Las ballenas jorobadas que se reproducen en aguas del Pacífico mexicano parecen mostrar patrones de aparición específicos en dichas zonas y puesto que estos misticetos son una especie con compleja conducta social y filopatria maternalmente dirigida, es posible que la dispersión de machos difiera de la de las hembras. Para conocer mejor la estructura genética de las ballenas jorobadas que invernan en tres zonas de reproducción del Pacífico mexicano se realizó el presente estudio analizando la distribución espacio-temporal de los loci de microsatélites GATA 28, TAA 31, GATA 53 y GATA 417 (Holm Larsen *et al.*, 1996; Palsbøll *et al.*, 1997) en estas tres zonas de reproducción.

ANTECEDENTES

LA BALLENA JROBADA

La ballena jorobada es un misticeto de la familia Balaenopteridae y es el único representante de la subfamilia Megapterinae. Debe su nombre científico *Megaptera novaeangliae* (Borowski, 1871), a sus grandes aletas pectorales y al espécimen tipo que provenía de Nueva Inglaterra. Sus nombres comunes en castellano, ballena jorobada o rorcual jorobado (del noruego rorval que significa ballena con surcos) se relacionan con una giba dorsal, que es más notoria al momento de sumergirse (Watson, 1981).

Los machos de esta especie miden en promedio 14.6 m y las hembras poco más de 16 m. Su robusto cuerpo, de hasta 40 toneladas, es generalmente de color negro con la región ventral blanca. En la cabeza y a lo largo de los márgenes inferiores de la boca, estos cetáceos tienen nodos en cuyo centro se desarrollan de uno a tres pelos largos. Las grandes aletas pectorales miden un tercio de la longitud total del cuerpo y son características de esta especie. La pequeña aleta dorsal, localizada sobre una joroba en el segundo tercio anteroposterior del cuerpo, tiene una forma que en cada individuo varía de una pequeña cresta triangular a una aleta mejor definida y falcada (Watson 1981; Leatherwood y Reeves, 1983; Cardwardine *et al.*, 1998; Reeves, *et al.*, 2002). La aleta caudal también es diferente en cada individuo con un tipo de coloración único que puede variar de totalmente negro a totalmente blanco, describiéndose básicamente cinco tipos según la cobertura de negro que posean (Katona *et al.*, 1979; Katona y Whitehead 1981; Katona *et al.*, 1982).

Los rorcuales jorobados presentan un ciclo anual dividido en dos etapas separadas en tiempo y espacio: la época de alimentación que ocurre durante el verano en las aguas frías de altas latitudes de 45° a 75°, y la época de reproducción que tiene lugar en el invierno en aguas templadas y cálidas de latitudes menores de 10° a 35° (Dawbin, 1966).

El área de distribución de las ballenas jorobadas durante la época de alimentación en el hemisferio sur abarca las áreas de las aguas adyacentes al continente antártico en cinco o seis zonas que coinciden con la división de las aguas antárticas. En este hemisferio, las zonas reproductivas se encuentran en las costas

de Tonga, las Islas Cook, Niue, Samoa y Fidji y las costas orientales y occidentales de Australia, Sudamérica, África y Madagascar. En el Atlántico noroeste las zonas alimentarias se encuentran en las costas de Islandia, el suroeste de Groenlandia, la península del Labrador y Terranova y los golfos de San Lorenzo y Maine, mientras que en el Atlántico noreste las ballenas jorobadas se alimentan al norte y este de las Islas Británicas. En la época reproductora la distribución de las ballenas jorobadas en el Atlántico norte comprende las Antillas Menores, las Bahamas, República Dominicana, el extremo oeste de Puerto Rico, Florida, Cuba y Golfo de México en el lado occidental de este océano y las Islas de Cabo Verde en el lado oriental. En el Pacífico norte las áreas de alimentación se localizan en el Mar de Ockhost, el Mar de Bering, la península de Kamchatka, las Islas Aleutianas, el sureste y centro de Alaska, Columbia Británica y California central. Las áreas reproductivas en el Pacífico Norte son tres: la occidental que abarca las Islas Marianas, Japón, Corea, Taiwán y las Islas Bonin, la central que incluye el archipiélago hawaiano y la oriental que está constituida por las costas del Pacífico mexicano. Las ballenas jorobadas que invernan en México se distribuyen en tres sub regiones reproductivas: la costa sur de Baja California Sur, las aguas costeras del Pacífico oriental mexicano desde Mazatlán hasta Tehuantepec, incluyendo las Islas Marías e Isla Isabel, y el archipiélago de Revillagigedo (Chittleborough, 1955 , 1958; Darling *et al.*, 1983; Perry *et al.*, 1985; Baker y Herman, 1987; Baker *et al.*, 1987; Clapham y Mayo, 1987; Urbán y Aguayo, 1987; Alvarez *et al.*, 1990; Baker, 1992; Darling y Cerchio, 1993).

En los hábitats de verano las ballenas encuentran mayor cantidad de alimento (crustáceos eufásidos o krill y peces pequeños) en las zonas de alta productividad, por lo que su distribución dentro de éstos depende de la concentración de las presas, la cual varía año con año, temporalmente, diurnamente o en escalas de tiempo más pequeñas (NMFS, 1991). Es en estos hábitats de alimentación donde las ballenas almacenan una capa de grasa que utilizan como reservorio energético durante las migraciones de largas distancias y durante su estancia en las áreas de reproducción.

Las conductas que se observan en las zonas de alimentación son cooperativas a corto y largo plazo, tales como el uso de columnas, nubes o redes de burbujas expeditas por las ballenas para concentrar el alimento, la congregación y aporreo de peces con las aletas, la alimentación escalonada y la utilización de la

superficie como una barrera para evitar el escape de los peces (NMFS, 1991). Los dos tipos de agrupaciones de los rorcuales jorobados observadas en las áreas de alimentación son las asociaciones fluidas de individuos que comen plancton y las uniones estables de individuos que comen peces. En las asociaciones estables, las ballenas actúan en conjunto para formar las redes de burbujas, pudiendo mantenerse los grupos unidos por mucho tiempo (Baker y Herman, 1984).

Durante la migración, las ballenas nadan a una velocidad promedio de 8 Km/h moviéndose en promedio 15° de latitud por mes a través de la costa o mar abierto. Aunque se conocen los puntos de inicio y término de las migraciones, las rutas que siguen estos mysticetos todavía no se conocen claramente. La longitud de la migración es variable, habiendo animales que realizan migraciones muy largas (por ejemplo, 4500 Km entre Alaska y Hawai ó 10 000 Km entre la Península Antártica y Colombia) e incluso, que atraviesan en ecuador, lo que posiblemente permita el intercambio genético entre poblaciones de ambos hemisferios a pesar de que estén separadas espacialmente por desfase estacional (Baker, 1992; Stone *et al.*, 1990).

Las madres enseñan a sus crías la ruta de migración durante su primer año de vida, lo que hace que las ballenas tengan una fidelidad hacia sus destinos migratorios o filopatría (Baker *et al.*, 1993), realizando las migraciones por clases de sexo y edad. En el hemisferio sur, en el viaje hacia menores latitudes, las primeras ballenas en llegar son las hembras en preñez temprana seguidas por animales sexualmente inmaduros, el resto de hembras con machos maduros y finalmente las hembras en lactancia temprana. En el viaje de retorno a latitudes mayores, las primeras en partir son las hembras con crías lactantes próximas al destete, luego lo hacen los animales inmaduros, los machos maduros con el resto de las hembras y las hembras en preñez tardía (Dawbin, 1966). Aunque la secuencia de migración no está bien documentada para el hemisferio norte, se sabe que los primeros animales observados en llegar a las zonas de reproducción en Hawai son las hembras que están amamantando y luego llegan los animales sexualmente inmaduros, los machos maduros, las hembras restantes y al último, las hembras que van a dar a luz. Cuando inicia la migración hacia las zonas de alimentación, las hembras nuevamente preñadas son las primeras en partir y posteriormente lo hacen los demás rorcuales en orden invertido de como llegaron (Clapham y Mayo, 1987; Darling y Cerchio, 1993; Clapham, 1996).

Durante la época de reproducción se distinguen varias pautas conductuales (tales como los saltos, coletazos, golpes con las pectorales, etc.) y diversos tipos de agrupaciones temporales que describen un sistema de apareamiento polígamo que involucra la competencia entre machos por hembras sexualmente maduras (Robins, 1954; Chittleborough, 1955; 1958; Tyack, 1981; Whitehead, 1982; Darling *et al.*, 1983; Glockner, 1983; Baker y Herman, 1984; Mobley y Herman, 1985; Baker y Herman, 1987; Clapham y Mayo, 1987; Campos Ramos, 1989; Clapham, 1996; Clapham *et al.*, 1992; Medrano-González, 1993; Salas-Rodarte, 1993, Medrano-González *et al.*, 1994).

En la primera categoría se encuentran animales solitarios que pueden ser juveniles o adultos, hembras o machos, cuya principal actividad consiste en navegar. Otro tipo de animales solitarios se encuentran los machos cantores, que se reconocen por la serie de sonidos ensamblados y repetitivos que emiten a manera de canto, sólo durante el invierno (Payne y Mac Vay, 1971; Payne y Guinée, 1983; Payne *et al.*, 1983).

Las parejas están formadas por animales juveniles o adultos. Puede tratarse de hembras y machos asociados al intento de apareamiento, de machos involucrados en la competencia en grupos mayores, o incluso de hembras sin algún propósito especial aparente. Las parejas normalmente navegan en sincronía sin despliegues conductuales.

Una hembra con su cría forman otro tipo de asociación en las áreas de reproducción. Estas parejas algunas veces están acompañadas por un adulto, denominado escolta. Puesto que todas las escoltas que se han identificado son machos, se presume que intentan copular con la hembra. Una asociación muy poco común es aquella entre más de una hembra con cría, aunque existen reportes de este tipo de agrupaciones (Salas-Rodarte, 1993).

Los grupos activos de superficie consisten de dos o más machos que compiten por aparearse con una hembra que se encuentra en el centro de la agrupación, aunque también existen agrupaciones de competencia sin hembras. Las peleas causan desgaste físico, que en ocasiones pudiera ser aprovechado por algún otro macho que no participe en la pelea para aparearse con la hembra. Los grupos de cortejo al inicio de la temporada reproductiva se observan sin crías, lo que indica que los machos tratan de copular con las hembras que ese año no dieron a luz. No obstante, hacia el final de la época reproductiva es más frecuente la presencia de

crías en estos grupos de cortejo porque los machos tratan de unirse con las hembras que dieron a luz y son receptivas. Con excepción de las madres con cría, las agrupaciones durante la época reproductiva son temporales, puesto que los individuos que forman el grupo cierto día pueden formar parte de otra agrupación en otros días.

A la edad de cuatro años los rorcuales jorobados alcanzan la madurez sexual, mientras que la madurez física ocurre a los diez años, cuando ya tienen la talla definitiva. El periodo de gestación de estas ballenas dura de once a doce meses, teniendo generalmente una cría cada dos años, aunque su intervalo de reproducción puede ser de uno a tres años según el tipo de ciclo reproductivo (A, B o C) que presenten. El ciclo tipo A es el más común y se caracteriza por la ausencia de ovulación postparto, o si esta ocurre no hay concepción. En este tipo de ciclo el nacimiento de una cría ocurre cada dos años y no hay periodo de anestro (falta de ovulación) después de la lactancia. En el ciclo tipo B la ovulación postparto culmina en la preñez, teniéndose dos crías cada dos años. En este caso las hembras pueden estar preñadas y amamantar a la cría al mismo tiempo, pero los fetos de estas hembras son ligeramente más pequeños que los de aquellas que no están amamantando durante la gestación. Este tipo de ciclo reproductivo no puede ser mantenido por una misma hembra durante mucho tiempo, pudiendo ocurrir un mes después al año siguiente y limitar la posibilidad de fertilización. Es probable que después de un ciclo de tipo B se regrese a uno de tipo A. En el ciclo tipo C la pérdida de la cría conduce a una preñez inmediata, de tal manera que se tienen dos crías en dos años pero sólo una sobrevive. Al parecer el ciclo de tipo A pudiera ser el normal para esta especie y los ciclos B y C los de poblaciones en recuperación (Chittleborough, 1958)

Actualmente se considera que las tasas y los intervalos de reproducción son propios de especies en recuperación, lo cual se basa en el número de ballenas estimadas en el momento de la prohibición de su captura comercial y la estimación que se tiene actualmente de ellas, además de las observaciones de hembras con cría en las diferentes poblaciones del mundo (Darling *et al.*, 1983; Glockner y Venus, 1983; Baker y Herman, 1987; Salas-Rodarte, 1993).

GENÉTICA DE LA BALLENA JROBADA

Los estudios de genética en cetáceos comenzaron en 1948 con la descripción del cariotipo de la marsopa de Dall (*Phocoenoides dallii*) hecha por S. Makino y desde entonces se ha descrito el cariotipo de muchas especies de estos mamíferos marinos. En los cetáceos se ha observado que el cariotipo está muy conservado, que tienen un patrón muy similar y un número cromosómico diploide de 44. La excepción son las familias Balaenidae, Physeteridae, Kogiidae y Ziphiidae en las que este número es de 42, debido probablemente a una fusión cromosómica (Duffield-Kulu *et al.*, 1971; Arnason, 1972, Arnason, 1974; Arnason *et al.* 1977; Arnason, 1981). Con el cariotipo se puede identificar el sexo de los individuos y también se pueden comprender algunos procesos genéticos, pero presenta dificultades técnicas para su obtención y no permite cuantificar las variaciones cromosómicas ni suponer una regularidad temporal en los cambios (Duffield-Kulu *et al.*, 1972; Arnason, 1974; Medrano-González, 1993).

Las técnicas moleculares por su parte han confirmado que el genoma de los cetáceos está conservado (Arnason y Widegreen, 1984). Además, con ellas también se puede estimar el sexo de los animales, permiten cuantificar la variación genética para conocer la estructura y dinámica poblacional, sus relaciones filogenéticas, su evolución y su historia reciente (Hoelzel y Dover, 1987; Palumbi *et al.*, 1991). Estas técnicas moleculares se han utilizado exitosamente en el análisis poblacional de diversas especies de cetáceos. En la ballena jorobada su aplicación inició con el análisis de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs) del DNA genómico total, encontrándose que el DNA mitocondrial (mtDNA) de estos mamíferos tiene una gran variación (Baker *et al.*, 1990; Baker, 1992).

El mtDNA permite describir procesos demográficos en poblaciones naturales, las relaciones filogenéticas entre individuos y su distribución geográfica (filogeografía intraespecífica) debido a su herencia materna, a la ausencia de recombinación y a su rápida tasa de mutación (Baker *et al.*, 1990). La herencia materna y la ausencia de recombinación del mtDNA establecen la relación filogenética de los haplotipos (tipos de mtDNA) que reflejan la historia de los diferentes linajes maternos, lo cual es una ventaja en el estudio de poblaciones con una organización social estructurada alrededor de la madre y con dispersión sesgada sexualmente como lo son las poblaciones de ballenas jorobadas. La rápida tasa de mutación del mtDNA, que es de cinco a diez veces mayor que la del genoma nuclear y contribuye a que la diferenciación genética sea más rápida

comparada con otros genes bajo el modelo de alelos infinitos (Baker y Medrano-González, 2002).

La variación genética en el mtDNA de las ballenas jorobadas se ha estudiado fundamentalmente en dos segmentos parcialmente sobrepuestos del Asa D de la región controladora por ser la única región mayor no codificadora y la que evoluciona más rápidamente (Palsbøll *et al.*, 1995; Hoelzel *et al.*, 1991). En las ballenas jorobadas del Pacífico norte y del hemisferio sur se analizó un segmento de 283 pb al que se ha denominado "consenso mundial", llamado así por ser la secuencia disponible para todas las muestras analizadas por Baker y Medrano-González (2002). Por otro lado, en las del Atlántico norte, además del consenso mundial, se estudió otro fragmento de 288 pb llamado "consenso del Atlántico norte", ambas partes sobrepuestas en 192 pb (Baker y Medrano-González, 2002).

El análisis de la variación del mtDNA en esta especie mostró poblaciones oceánicas muy estructuradas con bajos niveles de diversidad nucleotídica. Los linajes maternos están altamente subdivididos entre las tres poblaciones oceánicas. Mediante 33 posiciones nucleotídicas se han identificado 37 haplotipos que se han agrupado en tres clados mayores. Cada océano está dominado en frecuencia y diversidad por un clado diferente, y aunque dos clados tienen distribución transoceánica, ningún haplotipo es común a los tres océanos. El Pacífico norte está dominado por el clado AE que posee cinco haplotipos únicos: A, E, F, G y H. Los haplotipos A, E y F son comunes a todo el Pacífico norte, aunque el A lo es más en el sureste de Alaska y los F y E en California donde también se han encontrado los poco comunes G y H. En México se han encontrado ocho haplotipos: A, AE, E1, E2, E3, E4, F1 y F2, predominando los haplotipos E y siendo menos frecuentes los A (que son más comunes hacia el norte) y los F (que se encuentran más frecuentemente hacia el sur).

Las diferencias en la distribución haplotípica muestran una separación entre las subpoblaciones Hawai-Alaska y México-California, y en México, entre continente (Bahía de Banderas y los Cabos) y las Islas Revillagigedo (Medrano-González, 1993; Medrano-González *et al.*, 1995).

En el Pacífico Norte el análisis de mtDNA también sugiere que hay flujo génico (Medrano-González, 1993). El carácter panmítico de estas poblaciones puede derivar de la mezcla ocasional de las ballenas jorobadas en las zonas de reproducción, de que los hábitos de los machos no sean muy filopátricos (Palumbi y

Baker, 1994) y/o de que existan componentes poblacionales aún no descritos (Baker *et al.*, 1994).

En especies con compleja conducta social y dispersión sexualmente sesgada o filopatria maternalmente dirigida, como la ballena jorobada, las diferencias en la dispersión de machos y hembras podrían significar que la estructura de la población del mtDNA heredado maternalmente difiere de aquella del DNA nuclear (nuDNA) heredado biparentalmente, por lo que el análisis de mtDNA y nuDNA permite conocer además de la estructura poblacional, los componentes de su dispersión (Palumbi y Baker, 1994; Baker, *et al.*, 1998).

El flujo de genes nucleares es poco conocido en esta especie, pero al compararse los resultados de estudios de mtDNA con actinas nucleares, se encontraron estimaciones similares del flujo genético, concordando con otros estudios en la existencia de tres poblaciones mundiales de ballena jorobada (Palumbi y Baker, 1994; Baker, *et al.*, 1998). Sin embargo, en el Pacífico Norte los marcadores nucleares revelaron menos heterogeneidad relativa a la revelada por el mtDNA lo que produce patrones de estructura geográfica menos distintos ya sea porque los machos se dispersan más que las hembras y de manera preferencial entre las zonas de reproducción o porque hay un mayor tamaño efectivo de la población de los genes nucleares, presentándose flujo genético nuclear donde no ocurre el mitocondrial (Palumbi y Baker, 1994; Valsechi *et al.*, 1997; Baker, *et al.*, 1998). Las huellas moleculares de DNA (fingerprints) han expuesto un patrón de variación clinal en el Pacífico Norte (Baker *et al.*, 1993). Por su parte, las variaciones en las secuencias de un intrón de una actina nuclear definió dos clados distintos de alelos que difieren en frecuencia entre poblaciones oceánicas, pero no entre dos regiones del Pacífico Norte (Palumbi y Baker, 1994).

Los estudios acerca de genes nucleares en las ballenas jorobadas recientemente se han enfocado a los microsatélites, que son repeticiones en tándem de nuDNA de uno a seis pares de bases (cuatro en promedio). Este enfoque se debe a que pueden usarse en el análisis de variación y diferenciación poblacional por ser marcadores moleculares que presentan algunas ventajas sobre otros: se encuentran en gran número, están distribuidos a lo largo de todo el genoma de los eucariontes (principalmente en mamíferos) y sobre todo, presentan un gran polimorfismo (Queller *et al.*, 1993; Valdés *et al.*, 1993; Goldstein *et al.*, 1995; Slatkin, 1995; Takezaky y Nei, 1996; Zhivotovsky *et al.*, 1997; Balloux y Lougon-

Moulin, 2002). En el caso particular de los cetáceos, los microsatélites también permiten la identificación individual, reconocen parentescos, estiman abundancia utilizando métodos de captura-recaptura y pueden obtenerse con muy poca cantidad de muestra (Paetkau *et al.*, 1995; Buchanan *et al.*, 1996; Richard *et al.*, 1996; Valsechi y Amos, 1996; Palsbøll, 1997; Shinohara *et al.*, 1997). Al igual que con otros marcadores nucleares, el estudio de los microsatélites en las ballenas jorobadas ha expuesto un patrón de estructura geográfica reducida o menos consistente en la variación nuclear (Baker *et al.*, 1998). Investigaciones sobre este DNA repetitivo en las ballenas jorobadas de cuatro regiones (Pacífico Norte, Atlántico Norte y Australia oriental y la Península Antártica en el hemisferio sur) han expuesto de manera similar al mtDNA que en cada población existen alelos que en las otras no se presentan. Además han mostrado que existe heterogeneidad entre poblaciones a todos los niveles (aún entre subpoblaciones con haplotipos mitocondriales diferentes dentro de un mismo océano) siendo ésta mayor en el hemisferio norte en donde incluso se observa una menor diversidad alélica en comparación con el hemisferio sur (Valsecchi *et al.*, 1997). En el Atlántico Norte las zonas de alimentación central y oriental difieren en las frecuencias de haplotipos de mtDNA, pero no en los alelos de microsatélites, lo que sugiere panmixia oceánica resultante del entrecruzamiento en un área invernal común (Palsbøll *et al.*, 1995; Holm-Larsen *et al.*, 1996). En este mismo océano se ha observado paternidad múltiple en algunas zonas, mientras que en otras como las de alimentación occidental y central hay diferencias en las frecuencias alélicas de microsatélites, por lo que al parecer los individuos de esas zonas no se entrecruzan libremente (Clapham y Palsbøll, 1997; Valsecchi *et al.*, 1997). En el Pacífico Norte, los estudios acerca de los microsatélites han demostrado que los loci de estos marcadores nucleares se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg y han confirmado la diferencia poblacional entre el sur de Alaska y California Central, siendo sus resultados consistentes con aquellos obtenidos de intrones nucleares y que muestran diferencias alélicas entre estas dos regiones (Baker *et al.*, 1998). En el Pacífico sur, el análisis de microsatélites y mtDNA de ballenas jorobadas que migran a través de las aguas de la costa oriental australiana confirman que las madres y sus crías viajan juntas durante el primer año de vida del ballenato y que fuera de esta asociación, no se ha observado ningún otro patrón de parentesco entre los pequeños grupos migratorios. Así pues, si existe alguna organización social durante

la migración, ésta es transitoria y solo se realiza cuando es necesaria (Valsecchi *et al.*, 2002).

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

Se ha descrito que en México las ballenas jorobadas parecen tener patrones de aparición específicos en las zonas de reproducción por clases de sexo y de línea materna (identificada por el análisis de DNA mitocondrial). También se ha planteado la posibilidad de que la estructura poblacional del mtDNA difiere de la del DNA nuclear, aunque esta última ha sido poco estudiada en las ballenas jorobadas, por lo que en este momento es prioritario determinar en forma precisa y completa la distribución en tiempo y espacio de los microsatélites en las ballenas jorobadas que invernán en el Pacífico mexicano, lo cual, constituye el objetivo principal de este trabajo. En forma concreta, los objetivos particulares son los siguientes:

1.- Determinar la distribución de los microsatélites de las ballenas jorobadas durante la época invernal (distribución temporal) en las tres zonas de reproducción del Pacífico mexicano (distribución espacial).

2.- Analizar la variación genética existente en los microsatélites de las ballenas jorobadas en México.

MÉTODOS

Esta investigación es el resultado de la colaboración entre el Laboratorio de Mamíferos Marinos, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, el Laboratorio de Amniotas Marinos, Universidad Autónoma de Baja California Sur; el Molecular Ecology Laboratory, Universidad de Auckland, Nueva Zelanda y la Universidad Estatal de Humboldt, Estados Unidos.

El trabajo en el mar se realizó en las tres zonas de reproducción de las ballenas jorobadas en el Pacífico Mexicano: Bahía de Banderas, Nayarit, los alrededores de la Isla Socorro, Archipiélago de Revillagigedo y Los Cabos, Baja California Sur.

RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

En el Pacífico mexicano se obtuvieron 350 muestras de piel de ballenas jorobadas, de las cuales, de 293 se pudieron obtener de microsátélites debido a que 57 muestras probablemente no se preservaron de la mejor manera. Las muestras de piel se recolectaron entre 1990 y 1996 por miembros de los grupos anteriormente mencionados. En Los Cabos se recolectaron 129 de estas muestras, en Bahía de Banderas 80 y en Isla Socorro 84.

Para conseguir las muestras se navegó en embarcaciones con motor fuera de borda desde donde se tomaron fotografías blanco y negro de la aleta caudal de los rorcuales (Katona y Whitehead, 1981) y se hicieron observaciones conductuales antes de obtener las muestras. Para obtener la piel mediante biopsias se utilizó un sistema de recolección que se diseñó en la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, basado en los modelos previamente probados (Medway, 1983; Lambertsen, 1987; Lambertsen y Duffield, 1987; Mathews *et al.*, 1988; Weinrich *et al.*, 1991; Medrano, 1993). Las flechas tienen una punta metálica que penetra 1 cm en la piel y que retiene un fragmento de ésta una vez que ha rebotado del cuerpo de la ballena. Las flechas poseen también un flotador de color brillante que permite su fácil recuperación y se disparan con ballestas de 23 a 69 Kg de empuje. Los disparos se realizaron a una distancia de 5 a 20 m y por encima de la línea media del cuerpo del animal en la parte inferior y posterior de la aleta dorsal

donde la piel se encuentra más tensa, lo que evitó que el impulso de la flecha se disipara en el impacto. Se anotaron los datos básicos relativos al disparo y la conducta presentada por los animales antes, durante y después de este evento. Estos datos son el nombre del recolector, el número de recolección, la fecha, el esfuerzo, la hora a la que se obtuvo la muestra, la localidad, la agrupación social en la que se encuentra el individuo, el individuo del que se tomó la muestra, la especie o el género, el sexo del animal, las señas particulares del animal (coloración caudal, muescas, mordeduras, tipo de aleta dorsal, etc.), la conducta, el equipo utilizado (ballesta o red), los disparos fallidos, el tipo de biopsia, la distancia (en metros en caso de utilizar ballesta), el ángulo de incidencia de la flecha sobre el animal, la reacción del animal cuando se le dispara con ballesta, las condiciones meteorológicas, las fotografías tomadas al individuo muestreado y cualquier otra observación importante.

Las ballenas jorobadas al igual que otros animales presentan diferentes reacciones (que probablemente sean reflejos) ante el impacto del dardo en su piel. Estas reacciones se clasifican en las siguientes categorías (Brown *et al.*, 1991; Weinrich *et al.*, 1991; Clapham y Matilla, 1993):

- Ninguna reacción: la ballena continúa con la misma conducta previa a la biopsia sin cambios detectables.
- Reacción de bajo nivel: el animal modifica su conducta de forma leve, por ejemplo, acelera el nado, hace un coletazo leve, se arquea o se sumerge (apuro en la inmersión).
- Reacción moderada: el cetáceo cambia su comportamiento de forma más fuerte pero no da evidencia prolongada de perturbación conductual, por ejemplo, coletazo fuerte (flip fuerte), soplos continuos.
- Reacción fuerte: el rorcual altera su conducta a una sucesión de fuertes actividades, por ejemplo, coletazos muy fuertes, siguiente sopro muy fuerte.

La respuesta de las ballenas al disparo depende, además del tipo de punta que se utilice, de la forma en que la embarcación se acerque a ellas, por lo que hacerlo de manera cuidadosa producirá reacciones leves en los animales.

Además de las muestras obtenidas por biopsias de piel, se recolectaron y preservaron fragmentos de piel desprendida de manera natural durante actividades conductuales de alto gasto energético tales como coletazos, golpes con la aleta pectoral o saltos (Clapham *et al.*, 1993). Las muestras se guardaron en etanol al

70% o solución salina saturada con DMSO al 20% y se transportaron y almacenaron en frío a -20°C (Medway, 1983; Mathews *et al.*, 1988; Amos y Hoelzel, 1991; Weinrich *et al.*, 1991).

DISTRIBUCIÓN ESPACIO-TEMPORAL

La distribución de los rorcuales jorobados en las tres zonas de reproducción del Pacífico mexicano permite analizar a los microsatélites regionalmente (distribución espacial). El análisis de la distribución de los microsatélites a lo largo de la temporada invernal (distribución temporal) se dividió en tres etapas para tener un número más o menos homogéneo de muestras que además refleje la abundancia de los animales durante la época reproductiva en el Pacífico mexicano (Cuadro I y Figura 1). La primera etapa (temprana) abarcó de octubre al 21 de enero, la segunda (media) del 22 de enero al 4 de marzo y la tercera (tardía) del 5 de marzo al 15 de abril. En Los Cabos y en Bahía de Banderas se realizó el muestreo en las tres etapas en tanto que la Isla Socorro la recolección de muestras abarcó las etapas intermedia y final debido a que las ballenas llegan a la isla a finales de la primera etapa y a principios de la segunda.

La distribución en espacio y tiempo de las muestras analizadas en este trabajo se muestra en el Cuadro II.

ABUNDANCIA DE BALLENAS JOROBADAS EN EL PACÍFICO MEXICANO

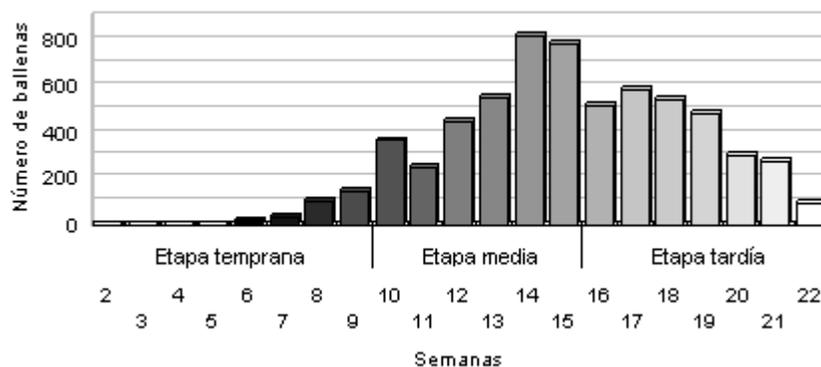


Figura 1: Abundancia de las ballenas jorobadas a lo largo de la temporada invernal en el Pacífico Mexicano.

Cuadro I: Fechas correspondientes a las semanas que componen las tres etapas de la temporada invernal de las ballenas jorobadas en el Pacífico mexicano.

Etapas	Semana	Fechas
Temprana	1	19 de Noviembre a 25 de Diciembre
	2	26 de Noviembre a 2 de Diciembre
	3	3 a 9 de Diciembre
	4	10 a 16 de Diciembre
	5	17 a 23 de Diciembre
	6	24 a 30 de Diciembre
	7	31 de Diciembre a 6 de Enero
	8	7 a 14 de Enero
	9	15 a 21 de Enero
Media	10	22 a 28 de Enero
	11	29 de Enero a 4 de Febrero
	12	5 a 11 de Febrero
	13	12 a 18 de Febrero
	14	19 a 25 de Febrero
	15	26 a 4 de Marzo
Tardía	16	5 a 11 de Marzo
	17	12 a 18 de Marzo
	18	19 a 25 de Marzo
	19	26 de Marzo al 1 de Abril
	20	2 a 8 de Abril
	21	9 a 15 de Abril
	22	16 a 22 de Abril

Cuadro II: Número de muestras de piel de ballenas jorobadas analizadas en cada etapa de cada región del Pacífico mexicano.

	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	Total de muestras
Los Cabos 1 (LC1)								
Octubre					1			1
Noviembre					1			1
25 – 31 Diciembre								
1 – 7 Enero								
8 – 14 Enero								
15 – 21 Enero					8			8
Total					10			10

Cuadro II: Continuación.

	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	Total de muestras
Los Cabos 2 (LC2)								
22 – 28 Enero					8	2	3	13
29 Enero – 4 Febrero							19	19
5 – 11 Febrero				6			1	7
12 – 18 Febrero				2				2
19 – 25 Febrero				6				6
26 Febrero – 4 Marzo				7				7
Total				21	8	2	23	54
Los Cabos 3 (LC3)								
5 – 11 Marzo								
12 – 18 Marzo			5	1			21	27
19 – 25 Marzo			3				4	7
26 Marzo – 1 Abril			4	9	3			16
2 – 8 Abril				8	3			11
9 – 15 Abril				2	1		1	4
Total			12	20	7		26	65
Total Los Cabos			12	41	25	2	49	129
Bahía Banderas 1 (BB1)								
25 – 31 Diciembre			2					2
1 – 7 Enero				1				1
8 – 14 Enero							15	15
15 – 21 Enero		3		10			10	23
Total		3	2	11			25	41
Bahía Banderas 2 (BB2)								
22 – 28 Enero		3		2			9	14
29 Enero – 4 Febrero	1		2					3
5 – 11 Febrero	2		4					6
12 – 18 Febrero			1	1				2
19 – 25 Febrero	1							1
26 Febrero – 4 Marzo			3					3
5 – 11 Marzo				2				2
Total	4	3	10	5			9	31
Bahía Banderas 3(BB3)								
19 – 25 Marzo							8	8
Total							8	8
Total Bahía Banderas	4	6	12	16			42	80
Isla Socorro 2 (IS2)								
22 – 28 Enero							1	1
29 Enero – 4 Febrero							1	1

Cuadro II: Continuación.

	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	Total de muestras
5 – 11 Febrero		3					1	4
12 – 18 Febrero		1					1	2
19 – 25 Febrero		5	8				2	15
26 Febrero – 4 Marzo			7				1	8
Total		9	15				7	31
Isla Socorro 3 (IS3)								
5 – 11 Marzo			1			15		16
12 – 18 Marzo						11	1	12
19 – 25 Marzo						7	2	9
26 Marzo – 1 Abril						14	2	16
2 – 8 Abril								
9 – 15 Abril								
Total			1			47	5	53
Total Isla Socorro		6	16			47	11	84
TOTAL DE MUESTRAS	4	12	40	57	25	49	94	293

EXTRACCIÓN DE DNA

Se obtuvo DNA de las muestras de piel mediante el siguiente protocolo. Cada muestra se desmenuzó con un bisturí en cajas de Petri estériles. Del tejido desmenuzado se tomaron de 0.1 a 0.5 g, a los que se les agregó una solución amortiguadora RSB, proteinasa K y SDS (20%) para luego incubar esta mezcla a 55° C. Después de una hora de incubación se agregó más proteinasa K y se continuó con la incubación por 1 a 3 horas hasta que se observó una suspensión negra. Se adicionó fenol equilibrado y se centrifugó. Se extrajo el sobrenadante al que se le añadió PCI (24 partes de fenol: 24 partes de cloroformo : 1 parte de alcohol isoamílico) y se centrifugó. El sobrenadante se decantó, se le adicionó PCI, se agitó y se centrifugó. El extracto se mezcló con acetato de amonio (7.5 mol/L) y etanol al 95% para precipitar el DNA durante toda la noche a -20° C. A la mañana siguiente se centrifugó. Cada “bolita” (pellet) de DNA se lavó con etanol al 70% y se secó en una incubadora a 37° C por una hora. El DNA seco se resuspendió en 100 a 300 µL de solución amortiguadora TE, se incubó a 55° C por 3 horas y en dependencia del rendimiento, el extracto se distribuyó en uno o dos tubos. El DNA extraído se determinó por medio de electroforesis en geles de agarosa 1% con buffer de TBE 0.5X con un marcador de 1000 pb. Se utilizaron 2 µL de extracto

mezclados con 2 μL de colorante denso y 1 μL de agua destilada. La electroforesis se corrió a 110 V por 45 minutos. Los geles se tiñeron en bromuro de etidio 10 mg/L por diez a 20 minutos y se enjuagaron con agua corriente por cinco minutos. Los geles se observaron y fotografiaron iluminados con luz ultravioleta (Sambrook *et al.*, 1989; Baker *et al.*, 1991; Palumbi *et al.*, 1991).

AMPLIFICACIÓN DE LOS MICROSATÉLITES

Los microsatélites GATA 28, TAA 31, GATA 53 y GATA 417 (Clapham y Palsbøll, 1997) se obtuvieron en el Molecular Ecology Laboratory (Auckland, Nueva Zelanda) durante Noviembre y Diciembre de 1998 mediante amplificación por la reacción de la polimerización en cadena (PCR). La mezcla amortiguadora para PCR se preparó con agua desionizada esterilizada, buffer PCR II 10X, buffer de MgCl_2 25mM, un primer f 10 μM , un primer R 10 μM , desoxinucleótidos (dATP, dCTP, dGTP y dTTP) 10 mM de cada uno, 5 u/ μL de Polimerasa Taq o Taq Gold y en algunos casos con BSA al 10% para eliminar las impurezas que pudieran contener los extractos de DNA. Los primers utilizados fueron el 28FAM f y r, 31TET f y r, 53TET f y r y 417FAM f y r. El extremo 5' de cada primer contuvo un colorante fluorescente, FAM (azul) o TET (verde) que facilitó la visualización de los alelos en el autosecuenciador. A 25 μL de la mezcla se les agregaron 20 μL de aceite mineral y de 1 a 4 μL (2 μL en promedio) de extracto de DNA. Se utilizaron 42 ciclos de amplificación en el termociclador (Biorad PTC100 o MJ25). Los protocolos variaron en la temperatura de acoplamiento según los primers (Cuadro III).

El producto de PCR se determinó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.6% con buffer de TBE 0.5X. El marcador utilizado fue de 123 pb. Se utilizaron 5 μL de amplificado de PCR mezclados con 2 μL de colorante. La electroforesis se corrió a 180 V por 13 ó 35 minutos (dependiendo del tamaño de la caja de electroforesis). Los geles se tiñeron en bromuro de etidio 10 mg/L con agitación constante por diez minutos y se enjuagaron con agua corriente con agitación constante por tres minutos. Los geles se observaron iluminados con luz ultravioleta en un lector de geles (Gel Doc 2000 de Biorad) para luego ser fotografiados (Figura 2). La concentración de los amplificados se estimó según la brillantez presentada en el gel con una escala de 0.5 a 8 siendo los más concentrados los que presentaron una brillantez de 0.5. Dependiendo de la

concentración, se colocaron de 0.5 a 8 μ L del amplificado de cada microsatélite para cada muestra y se aforaron a 20 μ L con agua desionizada esterilizada.

Cuadro III: Protocolos para los ciclos de amplificación de los primers 28 FAM, 31 TET, 53 TET y 417 FAM.

PRIMER	PRECALENTAMIENTO	DESNATURALIZACIÓN	ACOPAMIENTO	EXTENSIÓN	CICLO COMPLEMENTARIO FINAL
28 FAM	94° C 10'	92° C 30''	48° C 30''	72° C 30''	70° C ó 72° C 5'
31 TET	94° C 10'	92° C 30''	46° C 30''	72° C 30''	70° C ó 72° C 5'
53 TET	94° C 10'	92° C 30''	48° C 30''	72° C 30''	70° C ó 72° C 5'
417 FAM	94° C 10'	92° C 30''	46° C 30''	72° C 30''	70° C ó 72° C 5'

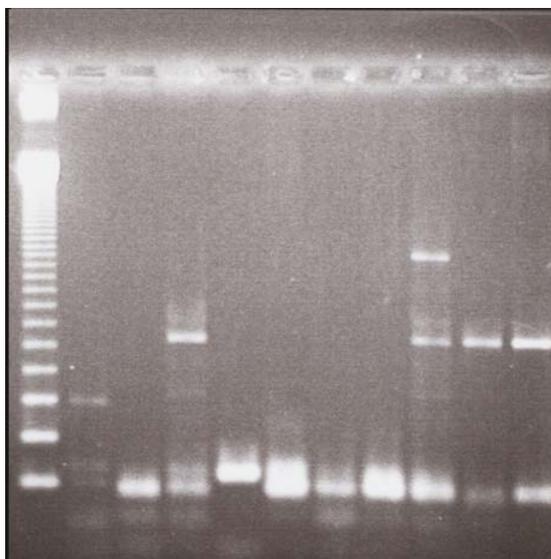


Figura 2: Gel de agarosa de los productos de PCR de microsatélites.

DETERMINACIÓN DE ALELOS

El tamaño exacto de los microsatélites se determinó en el Center for Gene Technology de la Universidad de Auckland, Nueva Zelanda, utilizando un secuenciador automático ABI 377 y empleando un marcador rojo (TAMRA) de peso molecular de 350 pb en cada carril. Por cada individuo, en cada carril se corrieron los cuatro loci con los marcadores TET (verde) y FAM (azul). Los productos de PCR

de ballenas cuyos pesos moleculares se conocían se mezclaron para utilizarlos a modo de escaleras (ladders) y se usaron para hacer la comparación entre varios geles. Para la tipificación de los individuos a partir del secuenciador se utilizaron los programas Genescan y Genotyper (Baker *et al.*, 1998) (Figura 3).

ANÁLISIS DE DATOS

Linajes de marcos de repetición

Los microsatélites son hoy en día uno de los principales marcadores nucleares utilizados para el análisis de estructura poblacional debido a su gran polimorfismo, resultado de una alta tasa de mutación que genera nuevos alelos por aumento o disminución del número de oligonucleótidos repetidos (Slatkin, 1995; Zhivotovsky *et al.*, 1997; Nilsen y Palsbøll, 1999). Cuando el tamaño de los alelos varía únicamente en múltiplos completos de la unidad de repetición básica se les denomina “arreglos perfectos”. La ballena azul, *B. musculus*, es el único cetáceo hasta hoy reportado en el que en todos los loci analizados se presentan únicamente este tipo de arreglos (Palsbøll *et al.*, 1999). Sin embargo, las unidades de repetición básica pueden ganar o perder únicamente un par de bases formando así “arreglos imperfectos”. Un ejemplo de esta clase de arreglos se han observado en el locus GATA 28 de *B. acutorostrata*, *B. physalus* y *M. novaeangliae* (Palsbøll *et al.*, 1999). Los arreglos imperfectos generan nuevos marcos de repetición que permiten dividir en grupos a los alelos de cada locus (Valdés *et al.*, 1993; Goldstein *et al.*, 1995; Slatkin, 1995). Cada grupo está formado por múltiplos de cada marco de repetición que representan diferentes linajes evolutivos y a los que Medrano-González *et al.*, (2001) denominaron linajes de marco de repetición (sequense repeat frames). Los intervalos de los pesos moleculares que corresponden a cada linaje de marco de repetición se asignaron de acuerdo con una hipótesis de ancestría (Medrano-González *et al.*, 2001) (Cuadro IV).

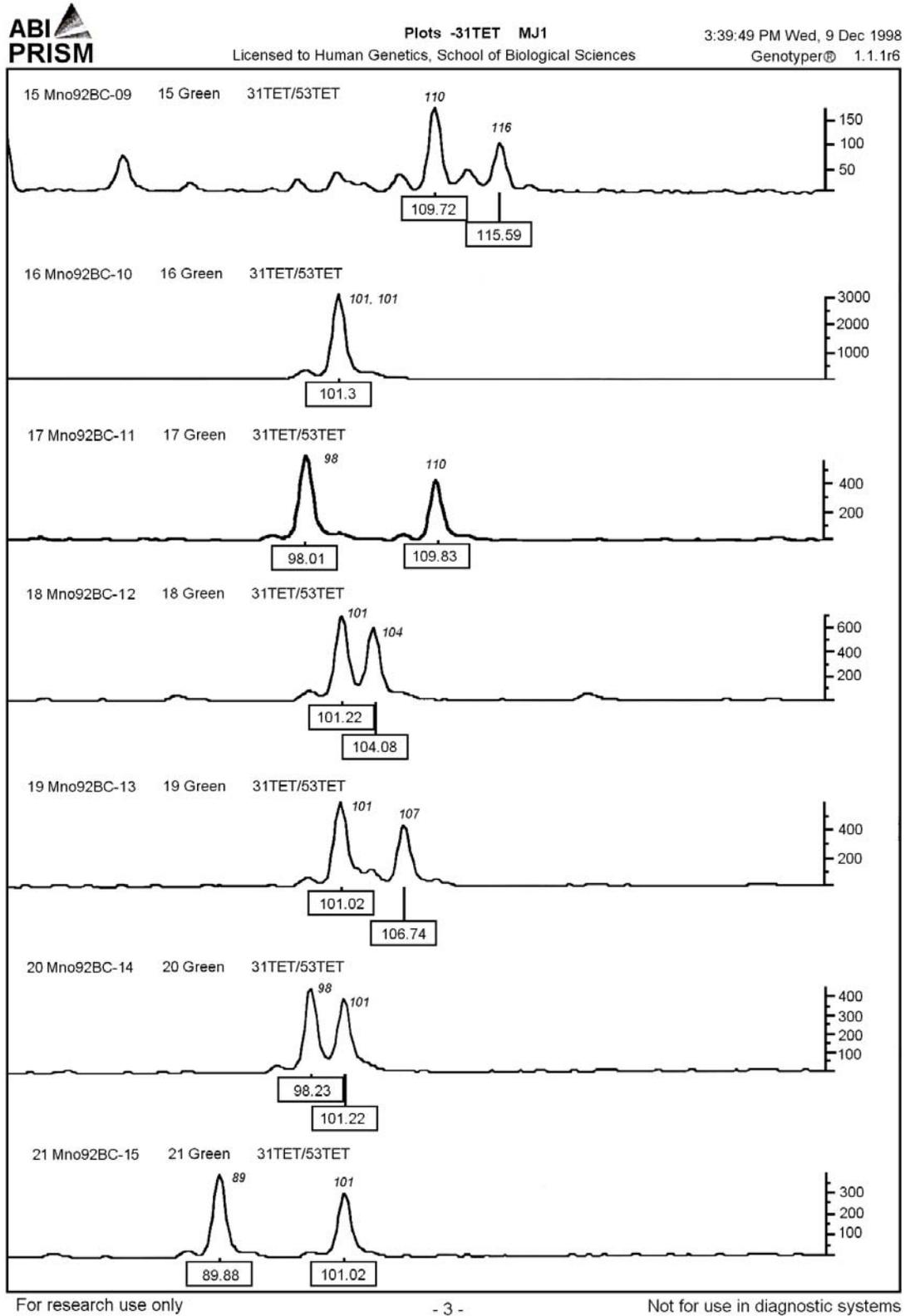


Figura 3: Determinación del tamaño de los alelos de microsatélites. Los genotipos homocigotos aparecen como un solo pico y los heterocigotos como dos.

Cuadro IV: Intervalos de los pesos moleculares (en pb) de cada linaje de marco de repetición para los loci de microsatélite.

	F1	F2	F3	F4
GATA 28	156 - 176	147 - 155	154 - 190	185 - 189
GATA 53	168 - 212	195 - 199	202 - 210	201 - 209
GATA 417	182 - 234	181 - 221	180 - 212	179 - 215
TAA 31	59 - 125	88 - 130	90 - 114	-

Análisis genéticos

Las frecuencias alélicas permiten conocer la diversidad génica mediante el índice de diversidad de Nei (h), que es una medida de la variabilidad genética dentro de las poblaciones, esto es, la probabilidad de que dos alelos escogidos al azar en una población sean diferentes. En una población de eucariontes con apareamiento al azar, esta medida corresponde a la heterocigocidad esperada y puede calcularse a partir de las frecuencias alélicas y los efectos de muestreo casi no la afectan (Nei, 1987; Li, 1997). Este índice se calculó con el programa Arlequín 1.1 (Schneider *et al.*, 1997) mediante la ecuación:

$$h = [(n+1)/n] (1 - \sum_{i=1}^k p_i^2)$$

donde k es el número de alelos observado en cada locus, i es el alelo y p_i es la frecuencia de cada alelo, n es el número de datos y h es la probabilidad de que dos alelos escogidos al azar sean diferentes, o sea, es la heterocigocidad esperada en una población con apareamiento al azar (Li, 1997).

El índice de Shannon-Wiener (H) se calculó por medio de la fórmula:

$$H = - \sum_{i=1}^k p_i \log_2 p_i$$

donde k es el número alelos y p_i la proporción del total de la muestra (frecuencia alélica). La diversidad alélica se incrementa con el mayor número de éstos o con una distribución equitativa de acuerdo con la función de Shannon-Weiner (Krebs, 1985; Begon *et al.*, 2003). Los índices bajos indican que existen pocos alelos y que de éstos, hay una gran cantidad en uno solo o en unos cuantos.

Los índices de Nei y Shannon-Wiener tienen diferencias en cuanto a la sensibilidad a la riqueza alélica (Figura 4). El índice de Nei no es sensible a ésta ya que para más de 10 alelos los valores son mayores a 0.9 y menores a 1 con diferencias de milésimas al aumentar el número de alelos. Por su parte, el índice de Shannon-Wiener si es sensible a la riqueza debido a que combina los dos componentes de la diversidad, esto es, el número de alelos diferentes y la igualdad o desigualdad de la distribución de los individuos en los diversos alelos (Krebs, 1985; Begon *et al.*, 2003).

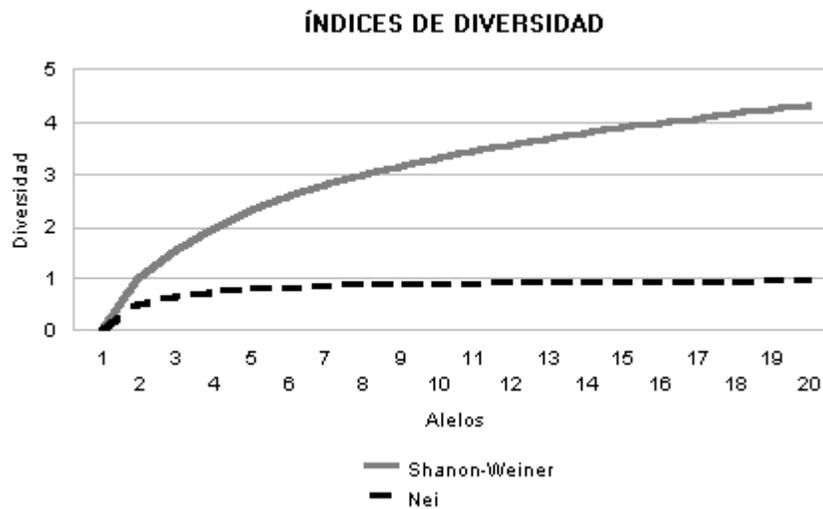


Figura 4: Índices de diversidad de Shannon-Wiener (H) y Nei (h) para veinte alelos con la misma frecuencia.

También se calculó el número efectivo de alelos (a_e) según la fórmula:

$$a_e = 1/1-h$$

Este número efectivo se refiere a la cantidad de alelos equitativamente frecuentes en una población que podrían requerirse para producir la misma homocigocidad como en una población verdadera (Nei, 1987; Hartl y Clarck, 1989). Este índice es el recíproco de la homocigocidad.

El índice de recambio (E_{st}) se calculó a partir de diferentes sumas del tamaño efectivo de alelos (n_e) entre el total de dichas adiciones.

Los efectos de la subdivisión poblacional se midieron con el índice de fijación mediante la fórmula:

$$F_{st} = H_T - H_S / H_T$$

donde H_T es la heterocigocidad total y H_S es la subpoblacional. Este índice calcula la reducción en la heterocigocidad en una subpoblación debida a la deriva génica. El índice de fijación siempre es mayor o igual a cero porque el efecto Walhund asume que la heterocigocidad total es mayor que la subpoblacional y si las subpoblaciones están en equilibrio de Hardy-Weinberg, entonces el F_{st} será igual a cero (Hartl y Clark, 1989).

El coeficiente de endogamia (F_{is}) que mide la reducción en la heterocigocidad de un individuo debido al apareamiento no azaroso dentro de una población se calculó mediante la fórmula:

$$F_{is} = f \text{ het esp} - f \text{ het obs} / f \text{ het esp}$$

donde $f \text{ het obs}$ es la frecuencia de heterocigotos observada y $f \text{ het esp}$ es la esperada (Nei, 1987) que se calculó con el programa Genepop (Raymond y Rousset, 1995).

El equilibrio de Hardy-Weinberg que explica lo que les sucede a las frecuencias alélicas y genotípicas de una población cuando los alelos pasan de una generación a otra en ausencia de procesos evolutivos relevantes se calculó utilizando el programa Arlequín 1.1 (Schneider *et al.*, 1997).

El dendrograma para la diferenciación espacial y temporal de los microsatélites se realizó utilizando el programa MVSP (Multi Variate Statistics Package) versión 2.1 de Kovach (1993) con el algoritmo WPGMA (Weighted Pair-Group Method with Arithmetic mean).

Comparación con otras poblaciones y especies

Se realizó una revisión bibliográfica sobre microsatélites en mamíferos marinos y se elaboró una base de datos para distintos loci, especies de mamíferos marinos y lugares de estudio. Se hicieron análisis con datos que fueran comparables para loci estudiados en este trabajo que incluyen polimorfismos, índice de endogamia (F_{is}) e índice de fijación o subdivisión poblacional (F_{st}).

RESULTADOS

Linajes de marcos de repetición

En el Pacífico mexicano, la mayoría de loci tuvieron representantes en cada linaje de marco de repetición con excepción de GATA 28 en donde se presentaron tres de los cuatro linajes posibles (Cuadro V). En cada una de las tres regiones estudiadas, la riqueza alélica de cada linaje fue diferente predominando en cada locus uno solo (Figura 5). La excepción fue GATA 417 en donde los linajes F1 y F4 se encontraron en proporciones similares mostrando una división entre ellos con una pequeña zona de sobreposición.

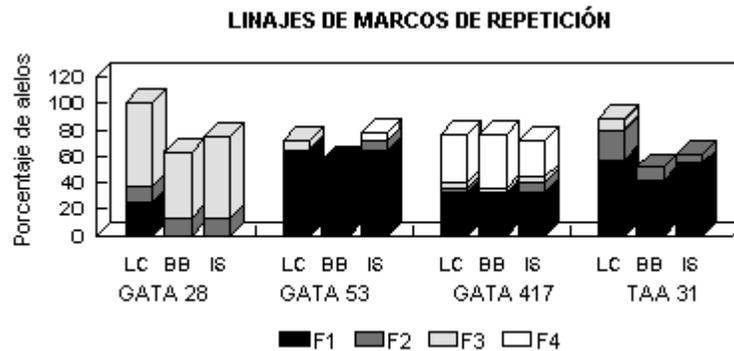


Figura 5: Porcentaje de alelos de cada linaje para cada locus en cada región del Pacífico mexicano. El porcentaje de alelos está dado con respecto al número total de éstos encontrados en el Pacífico mexicano.

Polimorfismo

Como en otros mamíferos, en las ballenas jorobadas también se observó el gran polimorfismo característico de los microsatélites. En México se hallaron 80 alelos (83%), de los 97 reportados para el Pacífico (Cuadro V).

Los Cabos fue la región que presentó el mayor polimorfismo y, de manera general fue la zona en la que se registraron los porcentajes de alelos diferentes más altos (más del 75%) en cada locus (Cuadro VI). En este lugar, el locus GATA 28 fue el único que presentó el 100% de los alelos registrados para el todo el Pacífico.

Cuadro VI: Número de alelos y porcentaje de éstos de cada loci en cada región. Se considera como 100% el número máximo de alelos encontrados en todo el Pacífico mexicano.

	GATA 28 (8)	%	GATA 53 (14)	%	GATA 417 (25)	%	TAA 31 (33)	%	TOTAL (80)
Los Cabos	8	100	10	71.42	19	76	29	87.88	66
Bahía Banderas	5	62,5	8	57.14	19	76	17	51.51	49
Isla Socorro	6	75	12	85.71	18	72	20	60.61	56

El número de alelos de cada locus se muestra entre paréntesis.

Alelos exclusivos

En el Pacífico mexicano se observaron 19 alelos únicos o exclusivos (Cuadro VII). La mayor cantidad de alelos únicos se observó en TAA 31. En los tetrámeros el número de alelos exclusivos se incrementó al aumentar el peso molecular de los microsatélites. Los dos alelos exclusivos de GATA 28 se localizaron en Los Cabos y hasta el momento, también son únicos para todo el Océano Pacífico. Los Cabos fue la región con el mayor número de alelos exclusivos (9) y Bahía de Banderas el área con el menor de éstos (3). En esta región, la mayor cantidad de alelos únicos se observó en el locus TAA 31. En la Isla Socorro se registraron diversos alelos exclusivos, la mayor parte de ellos pertenecientes a los tetrámeros GATA 53 y GATA 417. Con excepción de los alelos 59 y 103 de TAA 31 que se registraron en la primera y tercera etapa respectivamente, los demás alelos se observaron en la segunda etapa.

Frecuencias alélicas

En cada una de las tres regiones estudiadas y en todo el Pacífico mexicano el número de alelos con las mayores frecuencias en cada locus fue de dos o tres (Cuadro VIII). En GATA 28 estos alelos fueron el 147 ($f = 0.809$) y el 154 ($f = 0.121$), en GATA 53 el 176 ($f = 0.247$), el 196 ($f = 0.224$) y el 200 ($f = 0.203$), en GATA 417 el 214 ($f = 0.223$) y el 218 ($f = 0.157$) y en TAA 31 el 98 ($f = 0.184$), el 101 ($f = 0.2$) y el 107 ($f = 0.104$). El alelo 147 de GATA 28 fue el único cuya frecuencia

fue la más alta en todas las regiones. Contrario a esto, se encontraron muchos alelos con frecuencias muy bajas. (Figura 6 y Cuadro VIII).

Cuadro VII: Alelos exclusivos del Pacífico Mexicano.

	GATA 28	GATA 53	GATA 417	TAA 31
Los Cabos	156	205	212	94
	168			96
				97
				99
				103
Bahía Banderas			192	59
				112
Isla Socorro		195	181	62
		199	184	
		206	185	
LC-BB-IS			183	71
			187	77
				80
				86
				89
				91
LC-BB (Continetales)			179	95
LC-IS				68
				74
				83
				92

LC: Los Cabos, BB: La Bahía de Banderas, IS: Isla Socorro.

Cuadro VIII: Frecuencias alélicas de cada etapa regional del Pacífico mexicano.

Alelo	LC1	LC2	LC3	LC	BB1	BB2	BB3	BB	IS2	IS3	IS	MX
GATA 28												
147	0,8500	0,7830	0,7798	0,7831	0,8421	0,7949	0,7857	0,8155	0,8167	0,8600	0,8438	0,8087
154	0,1000	0,1038	0,1369	0,1220	0,1316	0,1538	0,1428	0,1429	0,1167	0,0900	0,1000	0,1222
156			0,0060	0,0034								0,0016
158	0,0500	0,0660	0,0298	0,0441	0,0263	0,0256		0,0238	0,0333	0,0100	0,0188	0,0322
168			0,0060	0,0034								0,0016
178		0,0283	0,0179	0,0203					0,0167	0,0200	0,0188	0,0145
182			0,0060	0,0034		0,0128	0,0714	0,0119		0,0200	0,0125	0,0080
186		0,0189	0,0179	0,0203		0,0128		0,0060	0,0167		0,0063	0,0113
GATA 53												
172									0,0192		0,0071	0,0018
176	0,1111	0,2571	0,2692	0,2541	0,2576	0,2597	0,1765	0,2500	0,1346	0,2727	0,2214	0,2445
180		0,1000	0,0513	0,0615	0,1061	0,1039	0,0588	0,1000	0,0577	0,0568	0,0571	0,0717
188			0,0128	0,0082	0,0152	0,0130		0,0125	0,0385	0,0227	0,0286	0,0147
192			0,1090	0,0697	0,0455	0,0779	0,1176	0,0688	0,0385	0,0568	0,0500	0,0643
195									0,0192		0,0071	0,0018
196	0,1111	0,2571	0,2436	0,2377	0,2576	0,1169	0,0588	0,1688	0,3077	0,2045	0,2429	0,2188
199									0,0192		0,0071	0,0018
200	0,6111	0,2714	0,1603	0,2254	0,1667	0,1948	0,2353	0,1875	0,2308	0,1705	0,1929	0,2059
204	0,1667	0,0857	0,0769	0,0861	0,1061	0,1558	0,2353	0,1438	0,0577	0,0795	0,0714	0,0993
205			0,0064	0,0041								0,0018
206									0,0192	0,0000	0,0071	0,0018
208		0,0286	0,0577	0,0451	0,0455	0,0779	0,1176	0,0688	0,0577	0,1364	0,1071	0,0680
212			0,0128	0,0082								0,0037
GATA 417												
179			0,0241	0,0139	0,0270	0,0132	0,0667	0,0242				0,0136
181									0,0909		0,0292	0,0068
183		0,0196		0,0069		0,0132		0,0061		0,0323	0,0219	0,0102
184									0,0455		0,0146	0,0034
185									0,0455		0,0146	0,0034
186										0,0108	0,0073	0,0017
187		0,0098	0,0120	0,0104	0,0135			0,0061	0,0455		0,0146	0,0102
191		0,0098		0,0035	0,0270			0,0121	0,0455		0,0146	0,0085
192						0,0132		0,0061				0,0017
195	0,2500	0,0392	0,0602	0,0660	0,0811	0,0658		0,0667	0,0227	0,0215	0,0219	0,0559
199		0,0490	0,0843	0,0660		0,0395	0,0667	0,0242	0,3409	0,0645	0,1533	0,0746
203	0,1000	0,0980	0,0723	0,0833	0,1216	0,0526	0,1333	0,0909	0,0227	0,0538	0,0438	0,0763
206		0,0196	0,0241	0,0208		0,0263		0,0121		0,0108	0,0073	0,0153
207	0,0500	0,1667	0,1024	0,1215	0,0811	0,1053	0,1333	0,0970	0,0455	0,0860	0,0730	0,1034
210		0,0588	0,0482	0,0486	0,0405	0,0395		0,0364		0,0645	0,0438	0,0441
211		0,0098	0,0120	0,0104		0,0263	0,0667	0,0182				0,0102

Cuadro VIII: Continuación.

Alelo	LC1	LC2	LC3	LC	BB1	BB2	BB3	BB	IS2	IS3	IS	MX
214	0.1500	0.2353	0.2048	0.2118	0.2027	0.2763	0.2000	0.2364	0.0909	0.3011	0.2336	0.2237
215					0.0135	0.0263	0.1333	0.0303				0.0085
218	0.0500	0.1176	0.1506	0.1319	0.2027	0.1842	0.1333	0.1879	0.1591	0.1720	0.1679	0.1559
221			0.0060	0.0035								0.0017
222	0.2500	0.0490	0.1265	0.1076	0.0676	0.1053	0.0667	0.0848	0.0455	0.1075	0.0876	0.0966
226	0.1500	0.0882	0.0422	0.0660	0.0811			0.0364		0.0538	0.0365	0.0508
230		0.0294	0.0181	0.0208	0.0270	0.0132		0.0182		0.0215	0.0146	0.0186
234			0.0060	0.0035	0.0135			0.0061				0.0034
TAA 31												
59					0,0132			0.0059				0.0017
62										0,0100	0,0068	0.0017
68		0,0096		0,0035						0,0100	0,0068	0.0033
71		0,0481	0,0667	0,0559	0,0526			0.0237	0,0417	0,0200	0,0270	0.0397
74		0,0288	0,0909	0,0629						0,0300	0,0203	0.0348
77		0,0096		0,0035	0,0263			0.0118	0,0625	0,0400	0,0473	0.0166
80		0,0385	0,0364	0,0350	0,0263			0.0118	0,0208	0,0100	0,0135	0.0232
83		0,0096		0,0035						0,0200	0,0135	0.0050
86		0,0096	0,0364	0,0245	0,0132	0,0135	0.0526	0.0178	0,0417		0,0135	0.0199
88			0,0061	0,0035								0.0017
89		0,0481	0,0788	0,0629	0,0658	0,0405	0.1053	0.0592	0,0208	0,0300	0,0270	0.0530
90			0,0061	0,0035								0.0017
91			0,0182	0,0105		0,0811		0.0355	0,0208		0,0068	0.0166
92		0,0096	0,0242	0,0175						0,0100	0,0068	0.0099
94			0,0061	0,0035								0.0017
95		0,0096	0,0121	0,0105	0,0132			0.0059				0.0066
96			0,0182	0,0105								0.0050
97			0,0121	0,0070								0.0033
98	0,0556	0,2596	0,1273	0,1713	0,2105	0,2162	0.2105	0.2130	0,1667	0,1900	0,1824	0.1854
99			0,0061	0,0035								0.0017
100			0,0121	0,0070								0.0033
101	0,1111	0,1827	0,2242	0,2028	0,2632	0,2162	0.2105	0.2367	0,1875	0,1400	0,1554	0.2003
103	0,0556			0,0035								0.0017
104	0,2778	0,1058	0,0970	0,1119	0,0789	0,1081	0.1053	0.0947	0,1875	0,1200	0,1419	0.1142
107	0,0556	0,0769	0,0727	0,0734	0,1053	0,1892	0.2105	0.1538	0,0833	0,1400	0,1216	0.1076
109			0,0061	0,0035								0.0017
110	0,2222	0,0385	0,0242	0,0420	0,1053	0,0676	0.0526	0.0828	0,1042	0,1400	0,1284	0.0745
112						0,0135		0.0059				0.0017
113	0,0556	0,0096	0,0121	0,0140	0,0132			0.0059				0.0083
116	0,0556	0,0385		0,0175	0,0132	0,0270	0.0526	0.0237	0,0208	0,0200	0,0203	0.0199
119	0,1111	0,0577		0,0280						0,0400	0,0270	0.0199
121						0,0270		0.0118	0,0417	0,0100	0,0203	0.0083

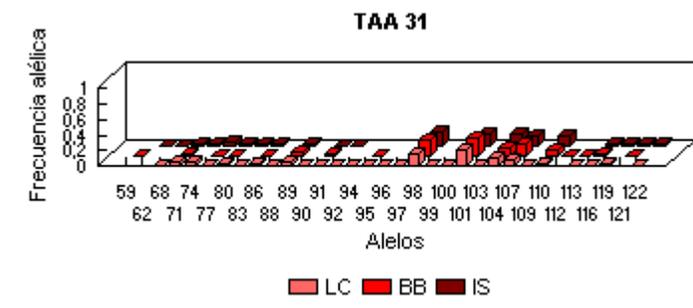
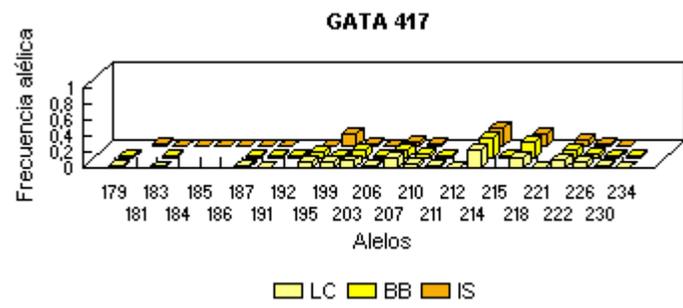
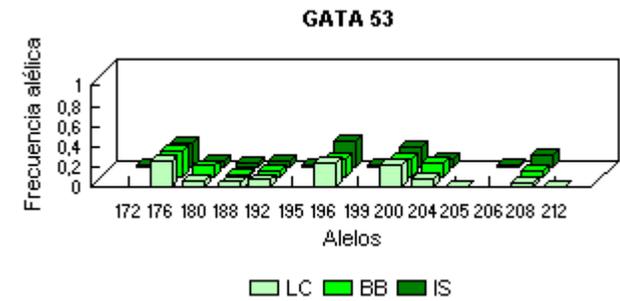
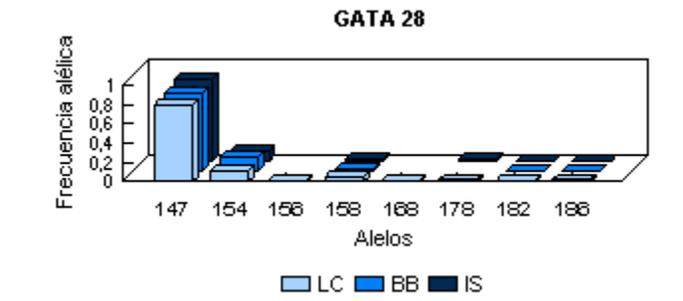


Figura 6: Distribución de los alelos de cada loci en cada región del Pacífico mexicano.

Las tres zonas de reproducción del Pacífico mexicano compartieron casi el 50% de los alelos reportados para todo el Pacífico mexicano. De manera similar, esto mismo se observó al comparar una zona con otra. Los Cabos e Isla Socorro tuvieron el mayor número de alelos en común (59%), en tanto que esta isla y la Bahía de Banderas coincidieron en un menor número de éstos (50%). Entre las tres zonas de reproducción el número de alelos comunes aumentó cuanto mayor fue el peso molecular de los loci tetrámeros (Cuadro IX).

Cuadro IX: Número de alelos compartidos en las tres regiones y en todo el Pacífico mexicano.

	LC-BB-IS	LC-BB	LC-IS	BB-IS
GATA 28	5	5	6	5
GATA 53	8	8	9	8
GATA 417	14	17	14	14
TAA 31	12	14	18	13
Total	39	44	47	40

En cada locus, pocos fueron los alelos que se distribuyeron a lo largo de todo el tiempo en cada lugar. En GATA 28, estos alelos fueron el 147 y 154, en GATA 53 el 176, 196, 200 y 204, en GATA 417 el 203, 207, 214, 218 y 222 y en TAA 31 el 98, 101, 104, 107 y 110 (Cuadro VIII y Figura 7).

Diversidad

La diversidad génica (h) total de cada locus para el Pacífico mexicano fue menor que la mayor encontrada en alguna de las tres etapas en cualquiera de las tres regiones (Cuadro X). La mayor heterocigocidad total de cada locus se registró en Los Cabos con excepción de GATA 53, que se encontró en la Bahía de Banderas. La diversidad génica total de los loci GATA 28, GATA 417 y TAA 31 de cada una de las etapas en la Bahía de Banderas fue menor que la total de Los

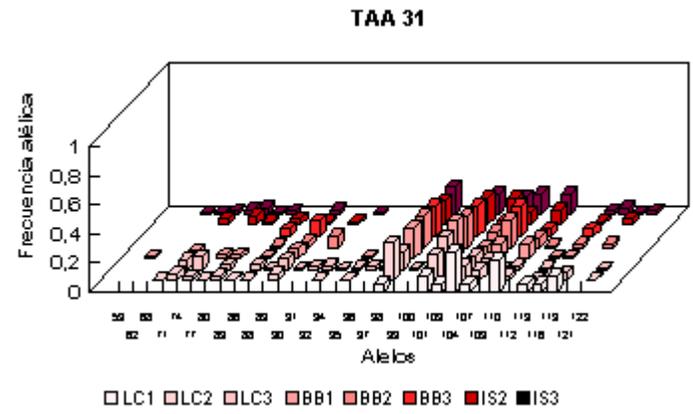
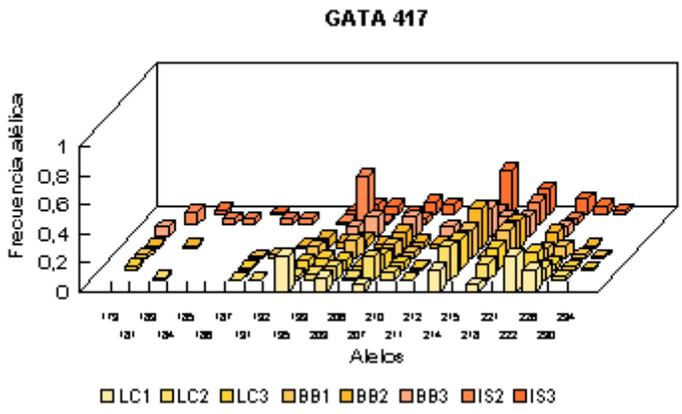
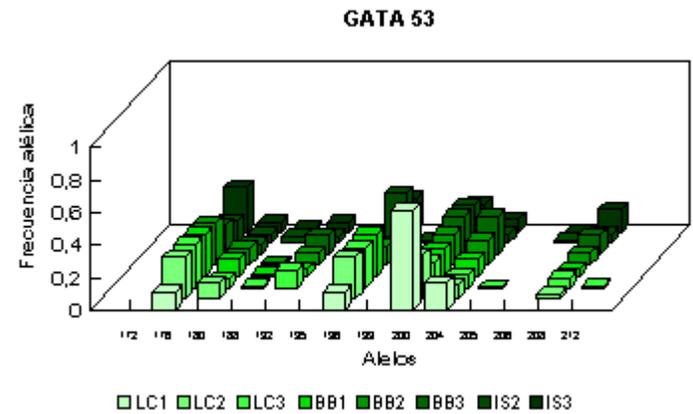
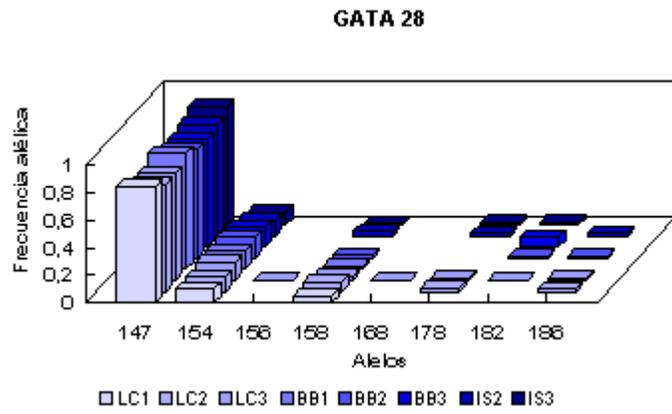


Figura 7: Distribución espacio-temporal de los alelos de cada loci en cada región y etapa del Pacífico mexicano.

Cuadro X: Diversidad genética de los cuatro loci en el Pacífico mexicano durante distintas etapas de su estancia invernal.

Etapa	Los Cabos			Bahía de Banderas			Isla Socorro			Pacífico Mexicano		
	<i>h</i>	<i>k</i>	<i>H</i>	<i>h</i>	<i>k</i>	<i>H</i>	<i>h</i>	<i>k</i>	<i>H</i>	<i>h</i>	<i>k</i>	<i>H</i>
GATA 28												
1	0.265	3		0.273	3	0.726	-	-	-	0.272	3	
2	0.371	5	0.748	0.343	5	0.975	0.318	5		0.350	6	0.738
3	0.372	8	1.128	0.357	3	0.947	0.251	5	0.914	0.331	8	1.063
Total	0.365	8	1.163 1.16	0.314	5	0.87	0.277	6	0.792	0.33	8	1.048
GATA 53												
1	0.574	4		0.813	8	2.623	-	-		0.805	9	
2	0.776	6	1.569	0.834	8	2.739	0.820	12	-	0.824	12	2.560
3	0.819	10	2.301	0.824	8	2.631	0.823	8	2.993	0.8	11	2.769
Total	0.809	10	2.728 2.65	0.834	8	2.72	0.831	12	2.691	0.826	14	2.757 2.77
GATA 417												
1	0.815	7		0.874	14	3.312	-	-		0.88	14	
2	0.874	15	2.586	0.855	15	3.239	0.855	12	-	0.887	21	2.979
3	0.887	17	3.341	0.871	9	3.057	0.829	13	3.045	0.878	19	3.463
Total	0.888	19	3.467 3.48	0.874	19	3.43	0.873	18	3.111	0.885	25	3.449 3.57
TAA 31												
1	0.833	9		0.849	13	3.122	-	-		0.866	15	
2	0.868	19	2.858	0.844	11	2.95	0.884	13	-	0.718	22	3.291
3	0.895	23	3.444	0.837	8	2.774	0.885	17	3.264	0.899	30	3.471
Total	0.896	29	3.722 3.79	0.852	17	3.19	0.873	20	3.340	0.887	33	3.828 3.71
TOTAL	0.975	66	3.79 4.78	0.93	49	4.66	0.975	56	3.52 4.58	0.93	80	3.71 4.78

h: índice de Nei, *k*: número de alelos; *H*: índice de Shannon-Wiener.

Cabos. La heterocigocidad de cada etapa en Los Cabos aumentó con el transcurso del tiempo en todos los loci. En la Bahía de Banderas el aumento se observó de la etapa uno a la dos en GATA 28. De igual forma, en Isla Socorro hubo un incremento temporal de la heterocigocidad en los loci GATA 53 y TAA 31. El locus con mayor diversidad de Shannon-Wiener (H) fue TAA 31 cuyo valor total fue el mayor registrado para todos los loci debido a que además de tener la mayor riqueza, los alelos estuvieron en más o menos las mismas proporciones. Por el contrario, el locus con menor diversidad fue GATA 28 ya que mostró pocos alelos diferentes y de éstos, uno solo (147) se registró en gran cantidad (Cuadro XI). Con excepción de GATA 28, en cada locus los mayores valores de H se presentaron en el linaje de marco de repetición F1. En los tetrámeros, la riqueza y la diversidad aumentó con el incremento del peso molecular (Figura 8).

Cuadro XI: Índice de Shannon-Wiener y número de alelos para cada linaje.

	F1	F2	F3	F4	TOTAL
GATA 28	156-176	147-155	154-190	185-190	
	$R = 2$	$R = 1$	$R = 5$		$R = 8$
	$H = 1$	$H = 0$	$H = 1.57$		$H = 1.02$
GATA 53	168-212	195-199	202-210	201-209	
	$R = 10$	$R = 2$	$R = 1$	$R = 1$	$R = 14$
	$H = 2.71$	$H = 1$	$H = 0$	$H = 0$	$H = 2.77$
GATA 417	182-234	181-221	180-212	179-215	
	$R = 9$	$R = 3$	$R = 3$	$R = 10$	$R = 25$
	$H = 2.39$	$H = 0.92$	$H = 1.5$	$H = 2.69$	$H = 3.56$
TAA 31	59-125	88-130	90-114		
	$R = 21$	$R = 9$	$R = 3$		$R = 33$
	$H = 3.46$	$H = 2.55$	$H = 1.37$		$H = 3.72$

R: Riqueza alélica, H: índice de Shannon-Wiener.

Regionalmente, Los Cabos mostró la mayor diversidad de Shannon-Wiener y la mayor riqueza con excepción de GATA 53, cuyos valores de diversidad y riqueza se encontraron en la Isla Socorro (Cuadro XII). Entre las dos zonas costeras, Los Cabos

también tuvo valores mayores que la Bahía de Banderas salvo, nuevamente GATA 53. En cada una de las regiones de nuevo se observó que el trímero TAA 31 tuvo la mayor diversidad y que en los tetrámeros, esta diversidad aumentó al acrecentarse el peso molecular de éstos. Los valores más altos de H de los loci GATA 28, GATA 417 y TAA 31 se registraron en la tercera etapa de Los Cabos, y de GATA 53 en la segunda de Isla Socorro (Cuadro XII). Los loci con mayor diversidad en todas las etapas fueron GATA 417 y TAA 31. En Los Cabos, los índices de Shannon-Wiener aumentaron con el paso del tiempo en todos los loci. En la Bahía de Banderas en los loci GATA 28 y GATA 53 se observó un incremento en la segunda etapa seguido de una disminución en la tercera, mientras que en los loci GATA 417 y TAA 31 hubo una disminución al transcurrir el invierno. En Isla Socorro el aumento se observó en GATA 417 y TAA 31 y la disminución en GATA 28 y GATA 53.

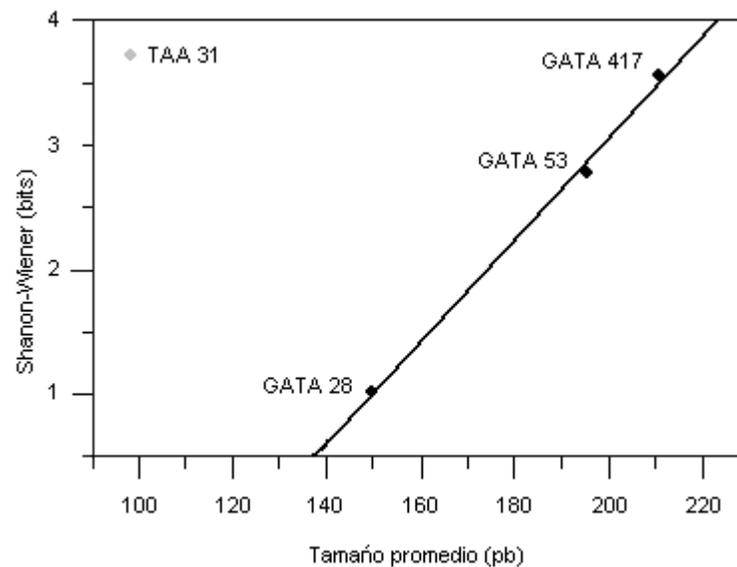


Figura 8: Diversidad y tamaño de los microsatélites en las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano.

Cuadro XII: Número efectivo de alelos (a_e), medida de uniformidad (n_e/k) e índice de recambio (Est) de cada locus en cada etapa y región del Pacífico mexicano.

	Los Cabos				Bahía Banderas				Isla Socorro				Pacífico mexicano			
GATA 28	k	a_e	a_e/k	Est	k	a_e	a_e/k	Est	k	a_e	a_e/k	Est	k	a_e	a_e/k	Est
1	3	1.361	0.454		3	1.357	0.452						3	1.373	0.458	
2	5	1.589	0.318		5	1.523	0.305		5	1.466	0.293		6	1.539	0.256	
3	8	1.591	0.199						5	1.336	0.267		8	1.490	0.186	
Total	8	1.575	0.197	0.039	5	1.448	0.290	0.006	6	1.383	0.231	-0.013	8	1.490	0.186	0.015
Total 1 + 2	5	1.549	0.310	0.048	5	1.448	0.290	0.006	-	-	-		6	1.489	0.248	0.022
Total 2 + 3	8	1.592	0.199	0.001	-	-	-	-	6	1.383	0.231	-0.013	8	1.514	0.189	-0.000
Total 1 + 3	8	1.565	0.196	0.057	-	-	-	-	-	-	-	-	8	1.458	0.182	0.018
GATA 53																
1	4	2.348	0.587		8	5.338	0.667						9	5.135	0.571	
2	6	4.463	0.744		8	6.007	0.751		12	5.541	0.462		12	5.696	0.475	
3	10	5.506	0.555						8	5.644	0.706		11	5.634	0.512	
Total	10	5.260	0.528	0.220	8	5.888	0.736	0.037	12	5.932	0.494	0.057	14	5.689	0.406	0.035
Total 1 + 2	6	4.222	0.704	0.193	8	5.888	0.736	0.037	-	-	-		12	5.528	0.461	0.020
Total 2 + 3	10	5.327	0.533	0.064	-	-	-	-	12	5.932	0.494	0.057	14	5.776	0.413	0.019
Total 1 + 3	10	5.537	0.554	0.291	-	-	-	-	-	-	-	-	10	5.632	0.563	0.044
GATA 417																
1	7	5.405	0.701		14	7.959	0.569						14	8.212	0.587	
2	15	7.929	0.529		15	6.876	0.458		12	5.831	0.486		21	8.867	0.422	
3	17	8.843	0.520						13	6.431	0.495		19	8.014	0.422	
Total	19	8.900	0.466	0.169	19	7.716	0.406	0.039	18	7.850	0.436	0.219	25	8.670	0.347	0.035
Total 1 + 2	15	8.400	0.556	0.206	19	7.716	0.406	0.039	-	-	-		22	9.128	0.415	0.064
Total 2 + 3	19	8.789	0.463	0.046	-	-	-	-	18	7.850	0.436	0.219	25	8.488	0.340	0.044
Total 1 + 3	17	8.812	0.518	0.192	-	-	-	-	-	-	-	-	21	8.340	0.397	0.027
TAA 31																
1	9	6	0.667		13	6.609	0.508						15	7.463	0.498	
2	19	7.585	0.399		11	6.427	0.584		13	7.890	0.607		22	7.803	0.355	
3	23	9.493	0.413						17	8.591	0.505		30	10.126	0.338	
Total	29	9.572	0.330	0.196	16	6.789	0.424	0.040	19	8.665	0.456	0.049	33	8.923	0.270	0.051
Total 1 + 2	20	8.260	0.413	0.178	16	6.789	0.424	0.040	-	-	-		24	7.836	0.326	0.026
Total 2 + 3	28	9.255	0.331	0.077	-	-	-	-	19	8.665	0.456	0.049	31	9.077	0.293	0.124
Total 1 + 3	26	10.048	0.387	0.229	-	-	-	-	-	-	-	-	32	9.380	0.293	0.062

Para todo el Pacífico mexicano, el número efectivo de alelos (a_e) total fue menor que el obtenido en la segunda etapa de los tetrámeros y de la tercera del trímero (Cuadro XII). El único locus que presentó un a_e total mayor en las tres regiones fue TAA 31. Al sumar los alelos de las etapas uno y dos, dos y tres, y uno y tres de Los Cabos, el mayor tamaño se encontró en la unión de las etapas uno y tres en la mayoría de loci, siendo la excepción GATA 28 en donde ocurrió en las etapas dos y tres. Para todo el Pacífico mexicano este mayor tamaño total se presentó en la unificación de diferentes etapas. El mayor tamaño efectivo total de cada locus se obtuvo en Los Cabos salvo para GATA 53 donde este alto valor se halló en Isla Socorro. De manera general, el tamaño efectivo aumentó con el transcurso del tiempo en cada una de las tres regiones. No obstante, para todo el Pacífico mexicano, este aumento constante solamente se encontró en el locus TAA 31, mientras que en los demás loci se registró un incremento en la segunda etapa y una disminución en la tercera. El mayor tamaño efectivo de alelos en el Pacífico mexicano se registró en el locus TAA 31 (que fue el locus con mayor riqueza de los cuatro estudiados), en tanto que en los tetrámeros dicho tamaño fue mayor cuanto más grande fue el peso molecular de los microsatélites.

Diferenciación espacio-temporal

El índice de diferenciación regional F_{st} para el Pacífico mexicano indicó poca distinción genética entre las tres regiones pero pudo notarse una cierta diferenciación entre la Isla Socorro y las dos zonas continentales (Cuadro XIII). El análisis conjunto de la distribución espacio-temporal de las frecuencias alélicas, de los índices de diversidad de Nei (h) y de Shannon-Wiener (H) y del número efectivo de alelos (n_e) señalaron una diferenciación genética de la población en espacio y en el tiempo (Cuadros VIII y XII).

En las dos zonas continentales se observó que, en determinados alelos de todos los loci, hubo un aumento constante de su frecuencia a lo largo de toda la temporada reproductora con la consecuente disminución de la frecuencia de otros (Figura 7). Lo mismo ocurrió con los índices de Nei y Shannon-Wiener y con el tamaño efectivo de los alelos. Durante la primera etapa invernal, las frecuencias alélicas y los índices de diversidad de la mayoría de alelos fueron bajos en Los

Cabos y más altos en Bahía de Banderas. También se observó un aumento en las frecuencias y los índices de diversidad de esos mismos alelos a la mitad de la temporada reproductora en Los Cabos.

Al igual que el índice de recambio (Est), los índices de diversidad de Nei y de Shannon-Wiener señalaron movimiento de ballenas, esto es, animales que se movieron de un lugar a otro en las distintas etapas invernales. De igual manera, dichos índices denotaron la acumulación de estos mysticetos durante la tercera etapa del invierno en las tres zonas estudiadas (Cuadro XIV y Figura 7). En la Bahía de Banderas, la etapa uno mostró una mayor diversidad y un índice de diferenciación pequeño al comparársele con Los Cabos (Cuadro XIV).

Cuadro XIII: Diferenciación regional (F_{st}) en microsatélites de las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano.

Los Cabos	0		
Bahía de Banderas	0.00216	0	
Isla Socorro	0.00291	0.00207	0
	Los Cabos	Bahía de Banderas	Isla Socorro

$$p(F_{st}) = 0.24$$

Cuadro XIV: Diferenciación regional y temporal en microsatélites de las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano. En la parte superior a la diagonal se muestran los valores de F_{st} y en la inferior los de R_{st} .

LC1		0.04008	0.04430	0.03816	0.05101	0.02588	0.04442	0.04274
LC2	0.12328		0.00168	-0.00375	0.00814	-0.00628	0.01160	0.00282
LC3	0.15193	-0.00548		-0.00193	0.00458	0.00541	0.00586	0.00401
BB1	0.12047	-0.01348	-0.00415		-0.00312	-0.00211	0.00747	-0.00180
BB2	0.04905	0.01899	0.04767	0.02062		-0.00179	0.01746	0.00021
BB3	0.05170	-0.01121	0.00083	-0.01991	-0.01379		0.00441	-0.00467
IS2	0.15356	0.07230	0.08405	0.07210	0.10781	0.11457		0.00650
IS3	0.03290	0.01931	0.04455	0.01991	-0.01094	-0.03812	0.11859	
	LC1	LC2	LC3	BB1	BB2	BB3	IS2	IS3

$$p(F_{st}) = 0.02444 \text{ y } p(R_{st}) = 0.00098$$

El análisis conjunto de los diversos índices igualmente indicó que en la Bahía de Banderas hubo bastante acumulación y poco recambio en la segunda etapa (Cuadros XII y XIV). En tal recambio se observaron animales genéticamente muy parecidos. En la Isla Socorro se registró acumulación y poco recambio entre las etapas dos y tres con excepción de GATA 417.

La variación en las frecuencias de los alelos que estuvieron presentes durante toda la temporada en las tres regiones arrojaron resultados importantes sobre la distribución espacio-temporal de los animales y a partir de ellas pudieron inferirse algunos patrones de dicha distribución. Una diferencia en el espacio se encontró en la frecuencia del alelo 77 (TAA 31) que durante todo el invierno fue baja en las dos zonas costeras en tanto que en Isla Socorro fue mucho mayor (Figura 7). La diferenciación en tiempo se notó en los alelos 207, 214 (GATA 417) y 98 (TAA 31) que en Los Cabos mostraron un aumento constante en sus frecuencias de las etapas uno a dos y una disminución en la tres. Esta diferenciación temporal para estos mismos alelos también se observó en la Bahía de Banderas aunque sus frecuencias fueron mayores que las de Los Cabos. El arribo a las zonas costeras de dos grupos diferentes de animales en distintos tiempos se percibió en los alelos 200 (GATA 53) y 104 (TAA 31) quienes mostraron una disminución constante de sus frecuencias a lo largo de toda la temporada en Los Cabos mientras aumentaban en la Bahía de Banderas. Un caso similar es el del alelo 195 (GATA 417) en quien se nota una alta frecuencia alélica en Los Cabos al inicio de la temporada seguido de una importante disminución en la segunda y un ligero aumento de ésta en la tercera. Un alelo que sugiere movimiento de los rorcuales jorobados hacia otras zonas diferentes a las estudiadas en este trabajo es el 89 (TAA 31) cuya frecuencia fue nula en la primera etapa en Los Cabos, mientras que fue muy alta en la Bahía de Banderas. Posteriormente, esta frecuencia fue muy baja en la segunda etapa en ambas regiones.

Un análisis de cúmulos de los valores pareados de R_{st} indicó que la primera etapa de Los Cabos lo conformó un grupo muy diferente de los demás. Esta primera etapa en Los Cabos difirió considerablemente del mismo período en la Bahía de Banderas aunque este primer periodo en dicha bahía fue muy similar al segundo de Los Cabos. En cuanto a la Isla Socorro, la segunda etapa fue muy diferente de todas las etapas en el continente (Figura 9).

Las comparaciones de datos agrupados pueden contener componentes de variación de dos o más factores, esto es, puede existir variación combinada entre regiones, entre años y entre etapas invernales. Las muestras adecuadas para examinar únicamente la variación regional (mismo año y misma etapa) se tuvieron sólo en la etapa dos de 1996 (Cuadros XV, XVI y XVII). En este caso, se observó una gran variación entre Los Cabos y la Bahía de Banderas y entre esta última y la Isla Socorro (Cuadro XV). Al unir la segunda etapa con la tercera, que son las menos disímiles entre sí, se notó una variación considerable entre las tres regiones, distinguiéndose mucho más la existente entre Los Cabos y la Bahía de Banderas (Cuadro XVI). La mayor variación entre regiones se observó durante la tercera etapa de 1996 (Cuadro XVII).

El análisis de la variación para la misma etapa en diferentes regiones y años indicó una considerable diferenciación de los años 1992 y 1996 en la Isla Socorro (Cuadros XVIII, XIX y XX y Figura 9). Esta desigualdad sugiere que durante la etapa inicial en la Isla Socorro (etapa dos) arribaron distintas ballenas jorobadas en los años 1992 y 1996.

El análisis de variación entre etapas invernales en una misma región y un mismo año se hizo para Los Cabos para los años 1993, 1994 y 1996 (Cuadro XXII) y para la Bahía de Banderas en 1996 (Cuadro XIII). Estos análisis mostraron que la mayor diferenciación se presenta entre la primera y la segunda etapa en estos años.

Cuadro XV: Diferenciación regional de microsatélites de las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano durante la etapa dos del año 1996. En la parte superior a la diagonal se muestran los valores de F_{st} y en la inferior los de R_{st} .

LC96-2	0	0.03972	-0.01171
BB96-2	0.23474	0	0.01838
IS96-2	-0.03430	0.11487	0
	LC96-2	BB96-2	IS96-2

$$p(F_{st}) = 0.11144 \text{ y } p(R_{st}) = 0.02542$$

Cuadro XVI: Diferenciación regional de microsatélites de las ballenas jorobadas durante las etapas dos y tres juntas del año 1996. En la parte superior a la diagonal se muestran los valores de F_{st} y en la inferior los de R_{st} .

LC96-2+3	0	0.04034	0.01468
-----------------	---	---------	---------

BB96-2+3	0.27582	0	-0.00668
IS96-2+3	0.10581	0.02698	0
	LC96-2+3	BB96-2+3	IS96-2+3

$$p(F_{st}) = 0 \text{ y } p(R_{st}) = 0$$

Cuadro XVII: Variación regional global de microsatélites de las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano durante las etapas dos y tres del año 1996.

	<i>Fst</i>	<i>P (Fst)</i>	<i>Rst</i>	<i>p (Rst)</i>
Etapa 2	0.0207	0.1114	0.1391	0.0254
Etapa 3	0.0302	0.0811	0.2689	0
Etapa 2 + 3	0.0260	0	0.2003	0

Cuadro XVIII: Variación anual de microsatélites de las ballenas jorobadas de Los Cabos durante la segunda etapa. En la parte superior a la diagonal se muestran los valores de *Fst* y en la inferior los de *Rst*.

LC93-2	0	0.03864	0.03177
LC94-2	0.04770	0	0.01397
LC96-2	0.33046	0.29281	0
	LC93-2	LC94-2	LC96-2

$$p(F_{st}) = 0 \text{ y } p(R_{st}) = 0$$

Cuadro XIX: Variación anual de microsatélites de las ballenas jorobadas de Los Cabos durante la tercera etapa. En la parte superior a la diagonal se muestran los valores de *Fst* y en la inferior los de *Rst*.

LC91-3	0	0.00766	0.02436	0.00789	0.05256
LC92-3	-0.02171	0	-0.00670	-0.02770	0.04934
LC93-3	-0.00086	-0.03034	0	0.00081	0.04738
LC94-3	0.01050	-0.02379	-0.03045	0	0.04772
LC96-3	0.26346	0.29203	0.34331	0.30002	0
	LC91-3	LC92-3	LC93-3	LC94-3	LC96-3

$$p(F_{st}) = 0 \text{ y } p(R_{st}) = 0$$

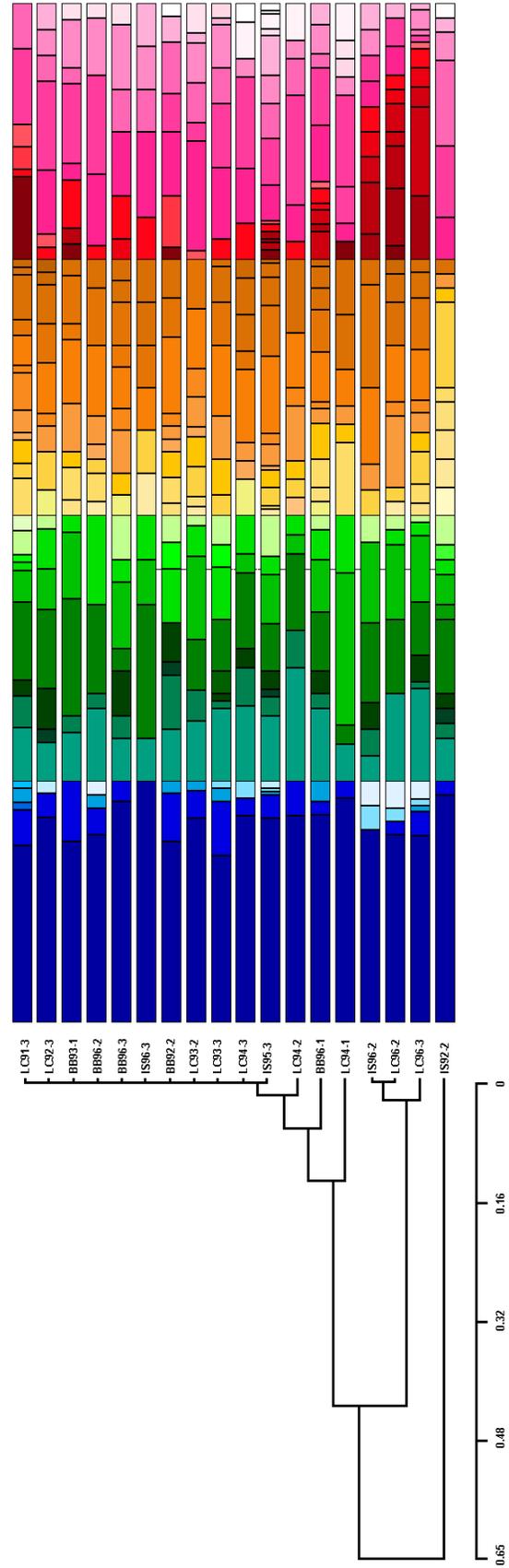


Figura 9: Dendrograma de las distintas etapas y regiones para los cuatro loci de microsatélites de ballenas jorobadas.

Cuadro XX: Variación anual para la misma etapa en diferentes regiones de microsatélites de las ballenas jorobadas.

Región, etapa y año	<i>Fst</i>	<i>p (Fst)</i>	<i>Rst</i>	<i>p (Rst)</i>
LC2 1993, 1994, 1996	0.0299	0.0254	0.2659	0
LC3 1991, 1992, 1993, 1994, 1996	0.0293	0	0.1957	0
BB1 1993, 1996	-0.0037	0.6843	-0.0419	0.9726
BB2 1992, 1996	0.0199	0.1701	-0.0430	0.9208
IS2 1992, 1996	0.044	0.0958	0.4424	0.0010

Cuadro XXI: Variación entre etapas invernales en una misma región y un mismo año de microsatélites de las ballenas jorobadas de Los Cabos en el año 1993. En la parte superior a la diagonal se muestran los valores de *Fst* y en la inferior los de *Rst*.

LC94-1	0	0.06165	0.06296
LC94-2	0.13875	0	-0.03590
LC94-3	0.02649	-0.05951	0
	LC94-1	LC94-2	LC94-3

$$p (F_{st}) = 0 \text{ y } p (R_{st}) = 0$$

Cuadro XXII: Variación global entre etapas en un mismo año en Los Cabos.

Año	<i>Fst</i>	<i>p (Fst)</i>	<i>Rst</i>	<i>p (Rst)</i>
1993	0.00019	0.4897	0.00010	0.3949
1994	0.06165	0.085	-0.05951	0.393
1996	-0.00440	0.8133	-0.02478	0.6315

Cuadro XXIII: Variación entre etapas en una misma región y un mismo año de microsatélites de las ballenas jorobadas de Los Cabos en el año 1996. En la parte superior a la diagonal se muestran los valores de *Fst* y en la inferior los de *Rst*.

BB96-1	0	0.00435	-0.01040
BB96-2	0.01885	0	0.02858
BB96-3	-0.00767	-0.04781	0
	BB96-1	BB96-2	BB96-3

$$p (F_{st}) = 0 \text{ y } p (R_{st}) = 0$$

Algunos análisis jerárquicos pudieron realizarse para discriminar simultáneamente diferentes factores de variación (Cuadro XXIV). Estos análisis fueron: 1) Diferenciación entre etapas dos y tres en Los Cabos dentro de la disparidad entre los años 1993, 1994 y 1996, 2). Diferenciación entre las etapas uno, dos y tres dentro de los conjuntos año/región LC94 y BB96 y 3) Diferenciación entre las etapas uno contra dos y tres juntas dentro de los conjuntos año/región LC94 y BB96. Los resultados sugieren que la diferenciación estacional es de grado similar a la regional y anual y que es más marcada en las regiones costeras entre la etapa invernal uno y las subsiguientes (Cuadro XXIV). Esto propone un componente migratorio temprano que pasa por la costa pacífica mexicana diferente al resto de animales que invernan en la costa pacífica de México.

También para examinar los diferentes factores de variación en conjunto, todas las clases de año/región/etapa se agruparon en un dendrograma construido por el método WPGMA (Weighted Pair Group Matrix Algorithm). En este dendrograma se advirtió que las ballenas que arribaron a la Isla Socorro en el año 1992 son un grupo muy diferente a los observados en las demás regiones, etapas y años (Figura 10). De la misma forma, el dendrograma mostró que los rorcuales que invernarón en Los Cabos y la Isla Socorro en el año 1996 son un grupo diferente a los de Bahía de Banderas. El dendrograma de igual forma mostró que la tercera etapa fue muy similar en todos los años y regiones.

Cuadro XXIV: Análisis jerárquico entre etapas en diferentes regiones de microsatélites de las ballenas jorobadas.

Análisis jerárquico	<i>Fst</i>	<i>p (Fst)</i>	<i>Rst</i>	<i>p (Rst)</i>
1) Entre etapas 2 y 3 dentro de años en LC	-0.0820	0.9110	-0.0163	0.9480
1) Entre años 93, 94 y 96 en LC	0.0448	0.055	0.2972	0.0655
2) Entre etapas 1, 2 y 3 dentro de LC94 y BB96	0.0145	0.1437	0.0113	0.5200
2) Entre LC94 y BB96	0.0023	0.3001	0.0378	0.09971
2) Entre etapas 1 vs (2, 3) dentro de LC94 y BB96	0.0200	0.04399	0.0429	0.11437
2) Entre LC94 y BB96	-0.0290	0.32551	0.0196	0.34311

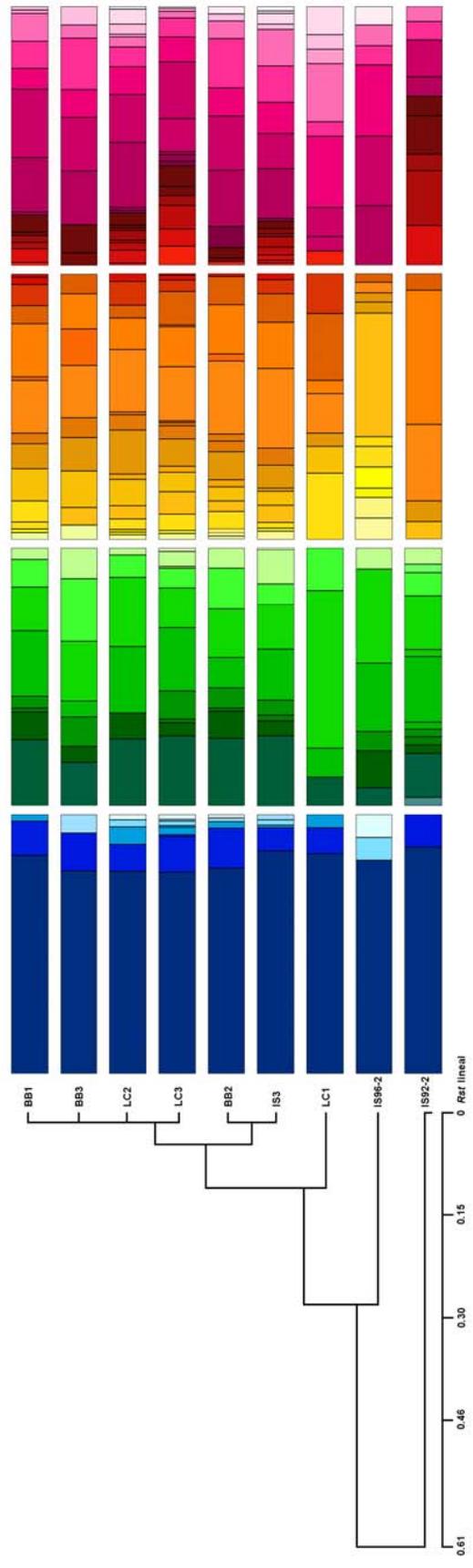


Figura 10 : Dendrograma y distribución de las frecuencias alélicas de los cuatro loci de microsatélites de las ballenas jorobadas. GATA 28: tonos azul, GATA 47: tonos verdes, TAA 31: tonos rojos.

Frecuencias genotípicas

En México se encontraron 214 genotipos para los cuatro loci analizados. Entre los cuatro loci, TAA 31 fue el que presentó la mayor cantidad de genotipos observados con respecto a todos los posibles de acuerdo a la cantidad de alelos registrados (15.6 %). Los tetrámeros tuvieron un mayor número de genotipos diferentes cuanto más grande fue el peso molecular de los mismos. Sin embargo, los porcentajes de genotipos observados con respecto a los posibles, disminuyeron al aumentar dicho peso molecular (Figura 11). Así, GATA 28 presentó 41.66%, GATA 53, 34.6% y GATA 417, 23,5%. En lo referente a los genotipos únicos de cada locus, la zona con la mayor cantidad de éstos fue Los Cabos (Cuadro XXV).

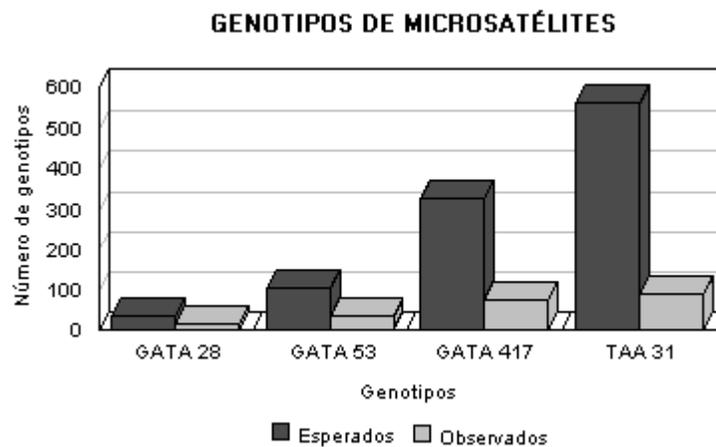


Figura 11: Número de genotipos observados y posibles de los loci de microsatélites

Cuadro XXV: Genotipos únicos para los cuatro loci del Pacífico mexicano.

	LC	BB	IS
GATA 28	4	1	-
GATA 53	4	3	4
GATA 417	20	15	5
TAA 31	40	10	10

EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG

Las frecuencias de heterocigotos observados y esperados junto con los índices de endogamia se muestran en el Cuadro XXVI. Las frecuencias de los heterocigotos observados y las de los esperados indican que, de manera general, la población de ballenas jorobadas del Pacífico mexicano se acerca al equilibrio de Hardy-Weinberg aunque dentro de esta población hay componentes que se alejan de dicho equilibrio. La desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg más notoria se localizó en la segunda etapa invernal de la Isla Socorro para el locus GATA 417, aunque para ésta no hay confianza estadística. Otras desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg son notorias en los totales de los cuatro loci en todas las etapas del Pacífico mexicano y sugieren efecto Wahlund o exceso de homocigotos de acuerdo con los elevados valores de F_{is} (Cuadro XXVI).

En los cuatro loci, en varias etapas y regiones, también se encontraron valores negativos que señalaron exogamia sobre la cual hay confianza estadística. La Bahía de Banderas y la Isla Socorro fueron las zonas con mayor exogamia para el locus GATA 53. En este mismo locus, en la última etapa de Los Cabos, los valores de F_{is} y P señalaron una población panmíctica.

INDIVIDUOS CON MICROSATÉLITES IDÉNTICOS

Se encontraron once pares de individuos con los mismos genotipos para los cuatro microsatélites (Cuadro XXVII). Para tener la certeza de que cada par de genotipos de microsatélites corresponde a un mismo individuo, en el Cuadro XXVII se muestran los datos de sexo, de mtDNA y de actinas (obtenidos molecularmente por Robles-Saavedra, en elaboración y Medrano-González, en elaboración). Los individuos que conforman los pares dos, seis, siete y ocho tienen los mismos alelos para cada uno de los cuatro microsatélites pero varían en alguno o algunos de los demás marcadores, lo que indica que se trata de animales distintos. Las ballenas de los pares uno, tres, cuatro, nueve, diez y once son genéticamente idénticas para todos los marcadores utilizados, por lo que puede considerarse que las muestras que forman cada par pertenecen al mismo animal. Además, las muestras de cada uno de estos pares se obtuvieron el mismo día o bien, con pocos días de diferencia en la misma zona por lo que pudiera tratarse de un doble muestreo.

Cuadro XXVI: Alejamiento del equilibrio de Hardy-Weinberg de las ballenas jorobadas en cada etapa y región del Pacífico mexicano.

		BB3 28						Total IS					PM3			
$f_{het}^{obs}/f_{het}^{esp}$		0.3000	0.3396	0.3333	0.3333	0.2895	0.3438	0.2857	0.3117	0.2000	0.2200	0.2125	0.2917	0.3043	0.2908	0.2961
		0.2650	0.3706	0.3716	0.3650	0.2729	0.3435	0.3571	0.3138	0.3178	0.2514	0.2772	0.2715	0.3501	0.3307	0.3297
P		1.1321	0.9164	0.8970	0.9133	1.0609	1.0007	0.8000	0.9931	0.6294	0.8751	0.7666	1.0743	0.8692	0.8794	0.8980
		0	1	0,09	0,03	0,28	0,08	1	0,04	0,91	0,12	0,23	0,24	0,13	0,12	0,12
F_{is}		-0.1321	0.0836	0.1030	0.0867	-0.0609	-0.0007	0.2000	0.0069	0.3706	0.1249	0.2334	-0.0743	0.1308	0.1206	0.0420
		GATA 53														
$f_{het}^{obs}/f_{het}^{esp}$		0.5556	0.7714	0.8205	0.7869	0.8182	0.9032	1	0.8732	0.9615	0.8864	0.9143	0.7619	0.8696	0.8527	0.8441
		0.5741	0.7759	0.8184	0.8099	0.8127	0.8335	0.8235	0.8336	0.8195	0.8228	0.8314	0.8053	0.8244	0.8268	0.8260
P		0.9677	0.9942	1.0026	0.9716	1.0068	1.0836	1.2143	1.0476	1.1733	1.0772	1.0997	0.9461	1.0548	1.0313	1.0219
		0,47	0,04	0,09	0,01	0,1	0,3	0.8500	0,24	0	0,01	0,01	0,6	0,12	0	0,09
F_{is}		0.0323	0.0058	-0.0026	0.0284	-0.0068	-0.0836	-0.2143	-0.0476	-0.1733	-0.0772	-0.0997	0.0539	-0.0548	-0.0313	-0.0219
		GATA 417														
$f_{het}^{obs}/f_{het}^{esp}$		0.8000	0.8235	0.8313	0.8264	0.7838	0.8667	0.8750	0.8267	0.3636	0.8511	0.6957	0.7872	0.7379	0.8406	0.7951
		0.8150	0.8739	0.8869	0.8876	0.8744	0.8546	0.8711	0.8737	0.8285	0.8445	0.8726	0.8782	0.8872	0.8773	0.8853
P		0.9816	0.9424	0.9373	0.9310	0.8964	1.0142	1.0045	0.9462	0.4389	1.0078	0.7972	0.8964	0.8317	0.9582	0.8982
		0,11	0,16	0	0	0,02	0,78	1	0,2	0	0,26	0	0,02	0	0	0,16
F_{is}		0.0184	0.0576	0.0627	0.0690	0.1036	-0.0142	-0.0045	0.0538	0.5611	-0.0078	0.2028	0.1036	0.1683	0.0418	0.2065
		TAA 31														
$f_{het}^{obs}/f_{het}^{esp}$		0.7778	0.8846	0.7619	0.8069	0.7105	0.8621	1	0.8000	0.9583	0.7400	0.8108	0.7234	0.8952	0.7676	0.8061
		0.8333	0.8682	0.8947	0.8955	0.8487	0.8444	0.8366	0.8524	0.8733	0.8836	0.8846	0.8660	0.8718	0.8989	0.8870
P		0.9333	1.0190	0.8516	0.9010	0.8372	1.0209	1.1954	0.9386	1.0974	0.8375	0.9166	0.8353	1.0268	0.8540	0.9088
		0,3	0,01	0	0	0,03	0,07	0.2200	0	0,01	0,01	0	0,02	0	0	0,0850
F_{is}		0.0667	-0.0190	0.1484	0.0990	0.1628	-0.0209	-0.1954	0.0614	-0.0974	0.1625	0.0834	0.1647	-0.0268	0.1460	0.0912
		TOTAL														
$f_{het}^{obs}/f_{het}^{esp}$		0.6053	0.6963	0.6839	0.6828	0.6438	0.7377	0.8000	0.6980	0.6078	0.6649	0.6451	0.6359	0.6867	0.6836	0.6771
		0.9030	0.9252	0.9344	0.9752	0.9229	0.9283	0.9373	0.9303	0.9159	0.9209	0.9752	0.9236	0.9276	0.9310	0.9301
P		0.6702	0.7526	0.7319	0.7002	0.6977	0.7947	0.8535	0.7502	0.6636	0.7220	0.6615	0.6885	0.7404	0.7343	0.7280
		0.3298	0.2474	0.2681	0.2998	0.3023	0.2053	0.1465	0.2498	0.3364	0.2780	0.3385	0.3115	0.2596	0.2657	0.2720
F_{is}																

Cuadro XXVII: Individuos con los mismos genotipos de microsatélites.

PAR	MUESTRA	FECHA DE RECOLECCIÓN	GATA 28		GATA 53		GATA 417		TAA 31		SE-XO	mt DNA	AC-TI-NA
LOS CABOS													
1	Mno91BC-20	1991	147	147	192	196	195	206	101	104	♂	A+	BB
1	Mno91BC-21	1991	147	147	192	196	195	206	101	104	♂	A+	BB
2	Mno92BC-6	16 de Marzo de 1992	147	147	200	208	199	218	98	110	♂	F-2	AA
3	Mno93BC-1	6 de Febrero de 1993	147	147	180	200	206	210	104	107	♂	A-	AB
3	Mno93BC-2	6 de Febrero de 1993	147	147	180	200	206	210	104	107	♂	A-	AB
4	Mno93BC-14	24 de Febrero de 1993	147	154	180	200	203	218	98	116	♂	E-4	AB
4	Mno93BC-16	27 de Febrero de 1993	147	154	180	200	203	218	98	116	♂	E-4	AB
5 *	Mno93BC-28	31 de Marzo de 1993	147	147	188	192	214	222	98	98	♂	A-	BB
6	Mno94BC-3	21 de Enero de 1994	147	147	176	200	195	226	104	119	♂	A+,-	AB
BAHÍA DE BANDERAS													
7	Mno90BB-2	6 de Febrero de 1990	147	147	200	204	214	222	91	104	♀	E1	BB
7	Mno92BB-3	7 de Febrero de 1992	147	147	200	204	214	222	91	104	♀	A+	BB
8	Mno93BB-16	22 de Enero de 1993	147	147	204	208	210	214	98	110	♂	E	BB
8	Mno96BB-3	9 de Enero de 1996	147	147	204	208	210	214	98	110	♀	E	AB
9	Mno96BB-26	21 de Enero de 1996	147	147	180	204	203	222	104	110	♂	F	AA
9	Mno96BB-27	21 de Enero de 1996	147	147	180	204	203	222	104	110	♂	F	AA
ISLA SOCORRO													
10	Mno95IS-6	5 de Marzo de 1995	147	178	176	196	210	218	98	107	♂	E+	AA
5 *	Mno95IS-7	7 de Marzo de 1995	147	147	188	192	214	222	98	98	♂	A-	BB
10	Mno95IS-25	15 de Marzo de 1995	147	178	176	196	210	218	98	107	♂	E+	AA
6	Mno95IS-27	15 de Marzo de 1995	147	147	176	200	195	226	104	119	♂	E	AB
2	Mno95IS-34	24 de Marzo de 1995	147	147	200	208	199	218	98	110	♀	E	AB
11	Mno96IS-4	2 de Febrero de 1996	147	147	196	200	218	218	71	86	♀	A+	BB
11	Mno96IS-8	22 de Febrero de 1996	147	147	196	200	218	218	71	86	♀	A+	BB

* Único par considerado como recaptura.

El único par genéticamente idéntico (para todos los marcadores) que pudiera considerarse como una recaptura en tiempo y espacio fue el cinco ya que las muestras se tomaron en diferentes lugares y en tiempos distintos. La primera muestra de este par se obtuvo en Los Cabos en 1993 y la segunda en la Isla Socorro en 1995.

COMPARACIÓN CON OTRAS POBLACIONES Y OTRAS ESPECIES

En distintas poblaciones de ballenas jorobadas del mundo se ha analizado un total de 34 loci. De estos, en ocho se han reportado más de 10 alelos (Figura 12). Estos loci son 417/418 (12 alelos), GATA 53 (13 alelos), EVMn96 (15 alelos), GATA 28 (16 alelos), GGAA520 (19 alelos), EV 37 (20 alelos), TAA31 (20 alelos), GATA 417 (21 alelos).

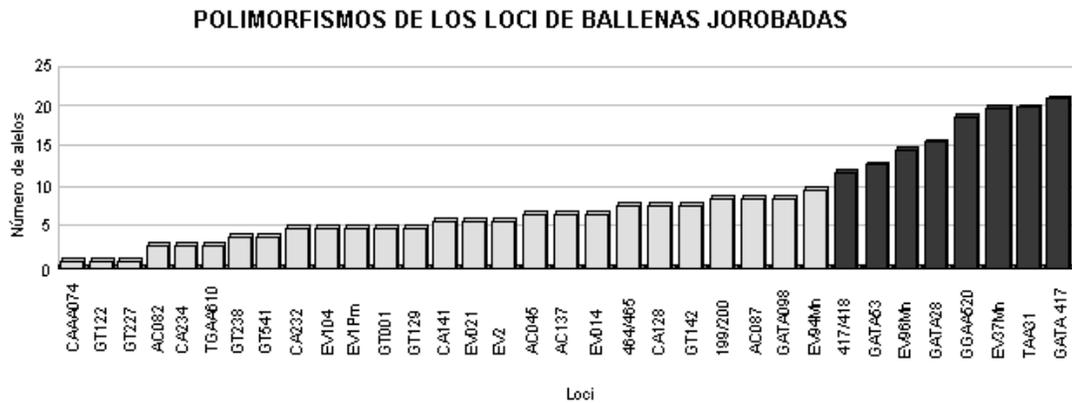


Figura 12: Polimorfismos de los loci de microsatélites de ballenas jorobadas de diversas partes del mundo y el número máximo de alelos reportados para cada uno de ellos. Los loci en tono oscuro son los que presentan más de diez alelos.

Las ballenas jorobadas analizadas en este trabajo, de manera general presentaron polimorfismos mayores a los reportados para ésta y otras especies de cetáceos en distintas partes del mundo e incluso para otro trabajo realizado en la Isla Socorro (Cuadro XXVIII). De los cuatro loci analizados en este trabajo sólo uno exhibió un polimorfismo ligeramente mayor que el hasta hoy reportado y es GATA 53 con un alelo más (Figura 13). El mayor polimorfismo, tanto de los cuatro loci analizados en este estudio como de los registrados en otras partes del mundo, se

observó en el locus TAA 31 ya que en él se reconocieron 13 alelos más que en el valor máximo reportado (20 alelos). GATA 28 fue el único locus con un polimorfismo mucho menor que el máximo reportado (16 alelos).

Cuadro XXVIII: Polimorfismos de los loci GATA 28, GATA 52, GATA 417 y TAA 31 analizados en ballenas jorobadas y en otras especies de cetáceos.

Referencia	Especie	Lugar	N° alelos
GATA 28			
6	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Corea	6
6	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Japón	8
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Mar de Cortés, México	9
5	<i>Balaenoptera physalus</i>	Mar de Cortés, México	10
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Islandia	12
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Golfo de Maine, U.S.A.	13
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Groenlandia Occidental	13
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	España	14
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Golfo de San Lorenzo, Canadá	15
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Mar de Liguria, Mediterráneo	15
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Ogasawara, Japón	2
1	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Atlántico norte nororiental	5
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Bahía de Banderas, México	5
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	California	5
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Hawai	6
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro, México	6
9	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro, México	6
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Sureste de Alaska	6
1	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Atlántico norte central	8
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Colombia	8
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Los Cabos, B.C.S. México	8
7	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Nueva Caledonia	9
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Península antártica	9
10	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Madagascar nororiental	13
10	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Gabón	16
3	<i>Physeter macrocephalus</i>	Global	3
GATA 53			
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Mar de Cortés, México	5
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Golfo de Maine, U.S.A.	9
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Groenlandia Occidental	9
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Islandia	9
5	<i>Balaenoptera physalus</i>	Mar de Cortés, México	9

Cuadro XXVIII: Continuación.

Referencia	Especie	Lugar	N° alelos
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Golfo de San Lorenzo, Canadá	10
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	Mar de Liguria, Mediterráneo	10
2	<i>Balaenoptera physalus</i>	España	11
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Ogasawara, Japón	4
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Península antártica	7
1	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Atlántico norte central	8
1	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Atlántico norte nororiental	8
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Bahía de Banderas, México	8
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	California	8
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Hawai	8
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Sureste de Alaska	8
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Colombia	9
9	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro, México	10
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Los Cabos, B.C.S. México	10
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro, México	12
10	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Gabón	13
10	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Madagascar nororiental	13
3	<i>Physeter macrocephalus</i>	Global	7
GATA 417			
6	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Corea	4
6	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Japón	7
5	<i>Balaenoptera physalus</i>	Mar de Cortés, México	14
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Ogasawara, Japón	7
1	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Atlántico norte nororiental	10
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	California	11
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Sureste de Alaska	12
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Atlántico norte central	13
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Colombia	13
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Península antártica	14
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Hawai	15
7	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Nueva Caledonia	15
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro, México	18
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Bahía de Banderas, México	19
9	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro, México	19
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Los Cabos, B.C.S. México	19
10	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Gabón	20
10	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Madagascar nororiental	21
TAA 31			
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	California	5
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Ogasawara, Japón	7
1	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Atlántico norte nororiental	9

Cuadro XXVIII: Continuación.

Cuadro XXVIII: Continuación.

Referencia	Especie	Lugar	N° alelos
1	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Atlántico norte central	10
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Colombia	10
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Hawai	10
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Sureste de Alaska	10
4	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Península antártica	11
9	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro, México	15
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Bahía de Banderas, México	17
10	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Madagascar nororiental	19
10	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Gabón	20
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro, México	20
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Los Cabos, B.C.S. México	29

Referencias: 1 Holm Larsen *et al.*, 1996, 2 Bérubé *et al.*, 1998, 3 Lyrholm *et al.*, 1999 4 Medrano *et al.*, 2001, 5 Bérubé *et al.*, 2002, 6 Dalebout *et al.*, 2002, 7 Garrigue *et al.*, 2002; 2004, 9 Cerchio *et al.*, 2005, 10 Pomilla y Rosenbaum, 2006 y 11 Este trabajo.

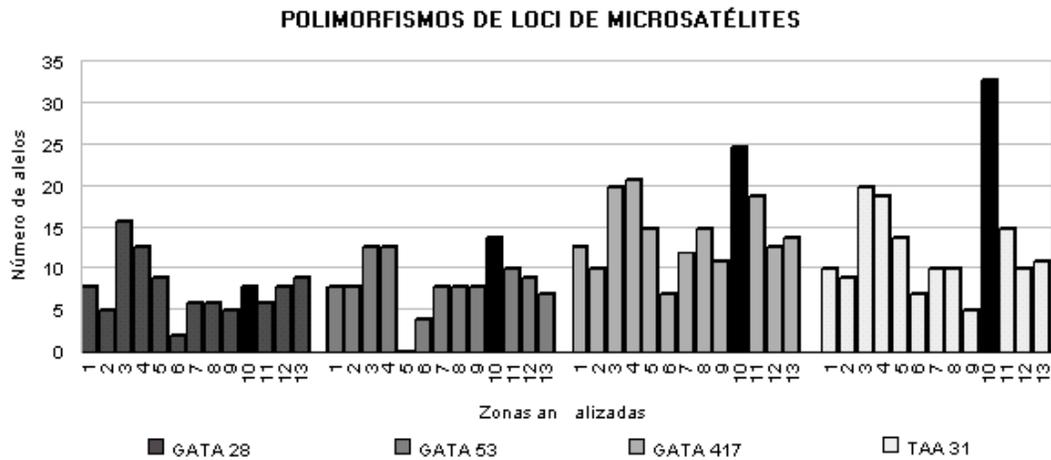


Figura 13: Polimorfismos de los loci GATA 28, GATA 53, GATA 417 y TAA 31 en 13 regiones del mundo. Las columnas en negro representan a las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano. 1 Atlántico norte central, 2 Atlántico nororiental, 3 Gabón, 4 Madagascar nororiental, 5 Nueva Caledonia, 6 Japón, 7 Sureste de Alaska, 8 Hawai, 9 California, 10 México, 11 Isla Socorro, 12 Colombia y 13 Península antártica referidas en el Cuadro XXVIII.

Los tetrámeros analizados en este trabajo también se han estudiado en otras especies de cetáceos, principalmente en otros rorcuales (Figura 14). En el locus GATA 28 el mayor polimorfismo lo presentaron las ballenas jorobadas, aunque

también fue muy alto en las ballenas de aleta (*Balaenoptera physalus*) y la diferencia entre ambas especies fue de tan sólo un alelo. En GATA 53 y GATA 417 se observó esto mismo con una diferencia de dos y siete alelos respectivamente entre ambas especies. Los loci GATA 28 y GATA 53 asimismo se han investigado en cachalotes (*Physeter macrocephalus*) observándose que en GATA 28 el polimorfismo fue muy bajo en estos odontocetos al comparárseles con los rorcuales, pero muy similar al de las ballenas jorobadas, en tanto que el de GATA 53 fue intermedio entre los valores mínimo y máximo de las ballenas de aleta. El locus TAA 31 solamente se ha analizado en las ballenas jorobadas. El rango de alelos diferentes para cada locus fue muy estrecho entre los rorcuales, mientras que en las ballenas jorobadas dicho rango fue mucho más amplio. En GATA 28, el número de alelos varió entre seis y ocho en *B. acutorostrata* y entre siete y 15 en *B. physalus* en tanto que en los rorcuales jorobados el rango osciló entre dos y 16 alelos. En GATA 53 se observó algo similar ya que en las ballenas de aleta el número de alelos varió de 5 a 11 mientras que en los rorcuales jorobados varió de 4 a 13. Lo mismo ocurrió en GATA 417 en donde se observó que en las ballenas de Minke el número de alelos fluctuó entre cuatro y siete y en las jorobadas entre siete y 21.

Las distintas subpoblaciones de ballenas jorobadas de diversas partes del mundo exhibieron alejamientos del equilibrio de Hardy-Weinberg en distintas formas y para diferentes loci (Cuadro XXIX). Los loci que indicaron mayor desviación del equilibrio con valores de F_{is} positivos fueron TAA 31 ($F_{is} = 0.5$) en Japón, GT238 ($F_{is} = 0.3433$), GT541 ($F_{is} = 0.28$), GATA 28 ($F_{is} = 0.2334$) en la Isla Socorro y CA234 ($F_{is} = 0.2308$) mientras que aquellos con valores de F_{is} negativos fueron AC137 ($F_{is} = -0.2195$), GT001 ($F_{is} = -0.1974$), GT129 ($F_{is} = -0.2500$) y GATA 53 ($F_{is} = -0.2857$) en Japón.

De manera general, al aumentar el número de alelos en los loci, los valores negativos casi no se presentaron (Figura 15). Sin embargo, los loci con mayor polimorfismo tendieron a tener mayor cantidad de valores positivos y una menor cantidad valores negativos.

Las diversas subpoblaciones de ballenas jorobadas en las que se han analizado los mismos loci de este trabajo presentaron diversos alejamientos del equilibrio de Hardy-Weinberg tanto negativos como positivos (Figura 16). En GATA 28 el mayor valor negativo se presentó en Hawai (-0.0954) y el máximo valor positivo en Isla Socorro (0.2334). Para GATA 53, Japón mostró el mayor valor

negativo (-0.2857) y el sureste de Alaska el máximo positivo (0.0359). En GATA 417 el máximo valor negativo (-0.0976) se registró en Japón en tanto que el mayor valor positivo se obtuvo en la Isla Socorro (0.2028). En TAA 31 el rango de valores que señalan alejamientos del equilibrio varió de -0.098 en Colombia a 0.5 en Japón. Los datos obtenidos en este trabajo en la Isla Socorro se pudieron comparar con los obtenidos por Cerchio y colaboradores (2005) en la misma isla durante los años 1997 a 2001 (Figura 16). Los valores de F_{is} obtenidos a partir de los datos de Cerchio *et al.* (2005) para los tetrámeros denotan valores negativos y únicamente en TAA 31 se advierte un alejamiento del equilibrio de Hardy-Weinberg considerable (0.0335) aunque menor al obtenido en esta investigación (0.0834).

Los índices de endogamia del rorcual pigmeo (*Balenoptera acutorostrata*) y del rorcual de aleta (*B. physalus*) pudieron calcularse para los loci GATA 28 y GATA 417 (Cuadro XXIX). En ambas especies se observaron alejamientos del equilibrio de Hardy-Weinberg, particularmente en el rorcual de aleta cuyos valores resultaron extremadamente elevados. En el locus GATA 28 los alejamientos del equilibrio presentaron valores negativos en la mayoría de los casos mientras que en GATA 417 tales distanciamientos tuvieron valores positivos.

Los índices de fijación F_{st} para las ballenas jorobadas de diferentes partes del mundo calculados para los loci EV1Pm, EV37Mn, EV94Mn y EV96Mn por Valsecchi y colaboradores (1997) señalaron una diferenciación poblacional muy considerable entre los rorcuales de Islandia y la Península Antártica, entre las de Maui y las del Atlántico Norte y entre las de Islandia y el Atlántico norte (Cuadro XXX). También indicaron una nula distinción entre las ballenas del océano austral y las de la Península antártica. En el Pacífico norte, Baker y coautores (1998) encontraron una muy clara diferenciación entre los rorcuales jorobados de California y los del Sureste de Alaska en el locus EV104 ($F_{st} = 0.133$). Otras diferencias considerables se encontraron en los loci 415/416 ($F_{st} = 0.06$), EV14 ($F_{st} = 0.017$) y 464/465 ($F_{st} = 0.01$).

TETRÁMEROS ANALIZADOS EN CETÁCEOS

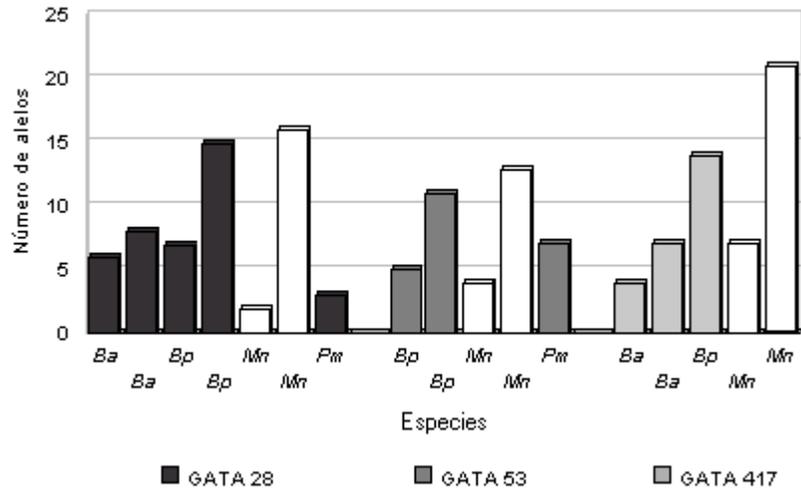


Figura 14: Loci de microsatélites analizados tanto en ballenas jorobadas como en otras especies de cetáceos. *Ba* *Balaenoptera acutorostrata*, *Bp* *Balaenoptera physalus*, *Mn* *Megaptera novaeangliae* (en blanco) y *Pm* *Physeter macrocephalus*.

Fis DE BALLENAS JOROBADAS

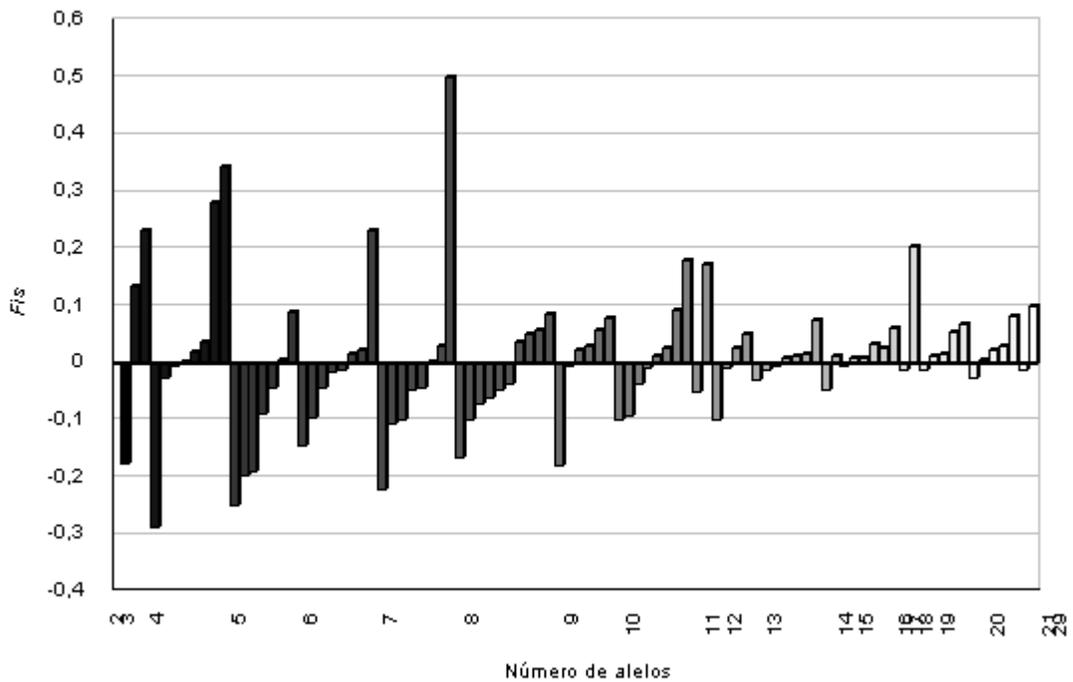


Figura 15: Índice de endogamia (F_{is}) de distintos loci de microsatélites de ballenas jorobadas de distintas partes del mundo.

Fis de BALLENAS JOROBADAS

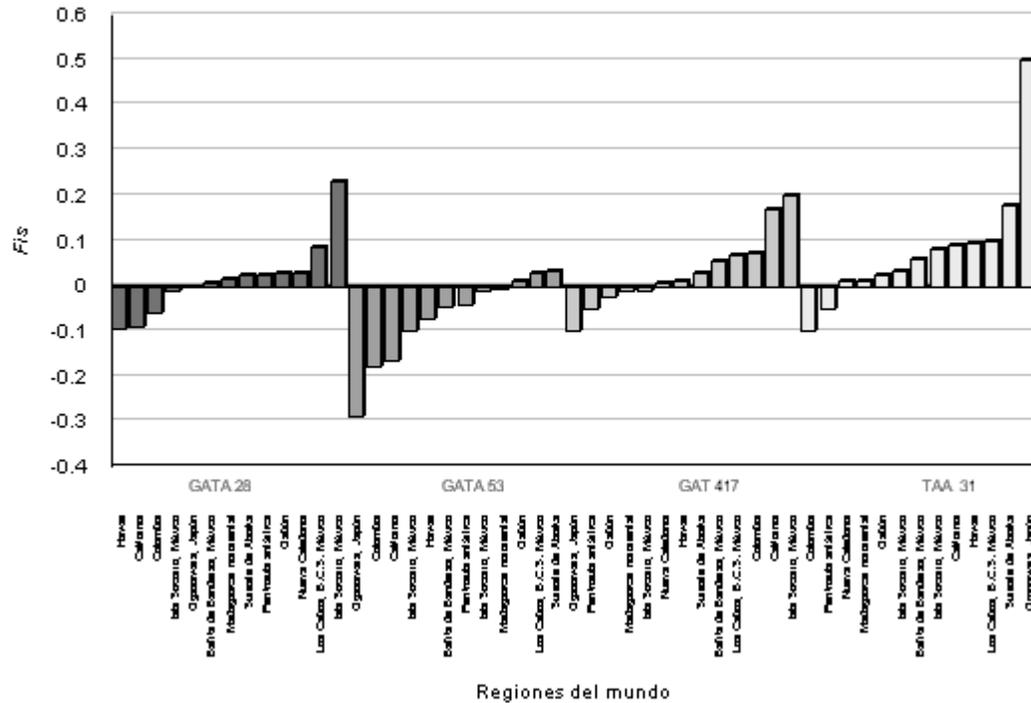


Figura 16: Índice de endogamia (F_{is}) de los cuatro loci de microsatélites de ballenas jorobadas de este trabajo en distintas partes del mundo.

Cuadro XXIX: Heterocigocidad observada (H_o), heterocigocidad esperada (H_e) e índice de endogamia (F_{is}) de otros rorcuales y de las ballenas jorobadas de México.

Referencia	Especie	Lugar	N° alelos	H_o	H_e	F_{is}
GATA 28						
6	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Japón	8	0.88608	0.8192	-0.0816
6	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Corea	6	0.74359	0.7796	0.0462
5	<i>Balaenoptera physalus</i>	Mar de Cortés, México	10	0.67	0.21	-2.1905
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Los Cabos	8	0.333	0.365	0.0867
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Bahía de Banderas	5	0.312	0.314	0.0069
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro	6	0.213	0.277	0.2334
GATA 417						
6	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Corea	4	0.55556	0.6092	0.0880
6	<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Japón	7	0.5375	0.6947	0.2263
5	<i>Balaenoptera physalus</i>	Mar de Cortés, México	10	0.66	0.02	-32.000
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Los Cabos	19	0.826	0.888	0.0690
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Bahía de Banderas	19	0.827	0.874	0.0538
11	<i>Megaptera novaeangliae</i>	Isla Socorro	18	0.696	0.873	0.2028

Referencias: 5 Bérubé *et al.*, 2002, 6 Dalebout *et al.*, 2002, 11 Este trabajo.

Cuadro XXX: Diferenciación regional (F_{st}) en microsatélites de las ballenas jorobadas de diferentes regiones del mundo.

MH	0				
AN	0.047	0			
I	0.017	0.036	0		
AO	0.019	-	-	0	
PA	-	0.018	0.048	-0.006	0
	MH	AN	I	AO	PA

MH: Maui, Hawai, AN: Atlántico norte, I: Islandia, AO: Australia occidental y PA: Península antártica (Valsecchi *et al.*, 1997).

Las ballenas de aleta (*B. physalus*) fueron otra especie de rorcuales en las que se hicieron análisis de subdivisión poblacional. Para esta especie, Bérubé y colaboradores (1998), utilizando los loci GGAA520, GT011, GATA028, GATA053, GATA098 y TAA023, reportaron una gran diferenciación de las ballenas del Golfo de California y las del resto del mundo, principalmente con las del Mar de Liguria en el Mediterráneo (Cuadro XXXI). Este último grupo de rorcuales mediterráneos también se distingue visiblemente de las ballenas de aleta del resto del mundo. Por otro lado, las ballenas de esta especie que presentan mayor similitud son las del Golfo de Maine con las de Groenlandia.

Cuadro XXXI: Diferenciación regional (F_{st}) en microsatélites de las ballenas de aleta (*Balaenoptera physalus*) de diferentes regiones del mundo.

GSL	0						
GM	-	0					
GO	-	0.002	0				
I	-	-	-	0			
E	0.033	0.036	0.015	-	0		
ML	0.119	0.15	0.116	0.094	0.097	0	
MC	0.422	0.516	0.486	0.509	0.519	0.601	0
	GSL	GM	GO	I	E	ML	MC

GSL: Golfo de San Lorenzo (Canadá), GM: Golfo de Maine (U.S.A.), GO: Groenlandia occidental, I: Islandia, E: España, ML: Mar de Liguria (Mediterráneo) y MC: Mar de Cortés (México).

DISCUSIÓN

La estructura genética de diferentes poblaciones de ballenas jorobadas en el mundo se ha estudiado usando un número diverso de loci de microsatélites que varía de cuatro (Valsecchi *et al.*, 1997; Medrano-González *et al.*, 2000) a 17 (Bérubé *et al.*, 2005). En estas ballenas el total de loci analizados y hasta hoy reportados es de 34 (Figura 12) y han mostrado ser tanto monomórficos (Bérubé *et al.*, 2005) como polimórficos con hasta 21 alelos diferentes por locus (Pomilla y Rosenbaum, 2006). Los loci con más de diez alelos que se han investigado en los rorcuales jorobados de diversas partes del planeta, incluidos los de este trabajo, son ocho y en su mayoría este gran polimorfismo se ha reportado para el hemisferio sur (Pomilla y Rosenbaum, 2006). Puesto que el grado de polimorfismo entre los loci de microsatélites en distintas partes del mundo es diferente, es posible que exista tanto una evolución molecular distinta entre loci como una historia orgánica disímil entre poblaciones.

Las ballenas jorobadas que invernan en el Pacífico mexicano mostraron el 83% de todos los alelos encontrados en los cuatro loci de microsatélites analizados para esta especie en el Océano Pacífico. El locus GATA 28 analizado en ballenas jorobadas del Pacífico mexicano fue el único que tuvo un polimorfismo menor al mayor registrado y que se observó en las ballenas jorobadas de la Antártica (Pomilla y Rosenbaum, 2006). Sin embargo, los tetrámeros GATA 53 y GATA 417 del Pacífico mexicano, presentaron valores ligeramente mayores a los reportados para poblaciones de ballenas jorobadas del hemisferio sur (Pomilla y Rosenbaum, 2006) y solo un locus, el trímero TAA 31 mostró un polimorfismo mucho mayor al registrado también en el hemisferio sur y el mayor para todos los loci analizados en diversas poblaciones.

Esta gran diversidad de los microsatélites de las ballenas jorobadas que se reproducen en aguas del Pacífico mexicano se debe a que las áreas de reproducción mexicanas forman una zona en la que confluyen ballenas jorobadas de diferentes zonas de alimentación en el Pacífico norte, provenientes principalmente de la región California-Oregon-Washington, de Columbia Británica y del sureste de Alaska (Medrano-González *et al.*, 1995; Baker *et al.*, 1998; Urbán Ramírez, 2001). Aunado a esto, la alta representatividad de alelos del Pacífico mexicano con respecto a toda la cuenca pacífica es el resultado de procesos

históricos de flujo génico entre el Pacífico norte y sur que Medrano-González *et al.* (2001) y Baker y Medrano-González (2002) han asociado a las glaciaciones ya que éstas han homogenizado a las poblaciones de ballenas jorobadas al reducir su hábitat y permitir el intercambio genético transoceánico. Es posible que el flujo génico entre hemisferios ocurra actualmente en menor grado si los rorcuales jorobados de ambas partes prolongan sus estadías invernales y éstas se empalman, por ejemplo, en Centroamérica (Acevedo y Smultea, 1995; Medrano-González *et al.*, 2001).

La diversidad génica permite calcular el tamaño efectivo de la población a largo plazo si se supone equilibrio entre mutación y deriva génica lo cual tarda miles de generaciones en alcanzarse. Los niveles de diversidad genética entre los cuatro loci de las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano varían entre $h = 0.33$ (GATA 28) y $h = 0.89$ (TAA 31). Con una tasa de mutación que en los mamíferos va de $\mu = 10^{-5}$ a 10^{-3} / generación individuo (Nikitina y Nazarenko, 2004), el tamaño poblacional efectivo inferido a largo plazo es $N = ([1/(1-h)] - 1) / 4\mu = 123\ 000$ a $202,272$ individuos. El tamaño poblacional efectivo máximo concuerda a *grosso modo* con el tamaño poblacional mundial prístino cercano a 150,000 individuos (Chapman 1974; Rice 1974, 1977; NMFS 1991) sugiriendo que la diversidad genética nuclear de las ballenas jorobadas es casi homogénea en toda la cuenca pacífica como producto del alto flujo génico entre las ballenas y/o el alto grado de homoplasia de los microsatélites. Puesto que es improbable que el tamaño poblacional de las ballenas jorobadas se haya mantenido constante por las miles de generaciones que toma alcanzar el equilibrio, la estimación del tamaño efectivo de su población mundial es el resultado del cálculo de muchos valores de dicho tamaño a lo largo del tiempo. Además, el tamaño poblacional efectivo es un valor para una población ideal que no está estructurada geográficamente, ni por edades y en la que existe la misma proporción de hembras y machos. Dicha estructura es la mediadora entre el valor N_e de la variación genética y el valor N demográfico. La similitud del valor de N_e estimado a partir de la diversidad genética y el valor demográfico prístino calculado con datos de captura, sugiere que las ballenas jorobadas fueron más abundantes durante el Pleistoceno tal y como lo señalan los análisis de mtDNA que han mostrado coalescencia en este período (Medrano González *et al.*, 2001; Robles Saavedra en elaboración). Es probable que la población mundial de ballenas jorobadas esté alejada del equilibrio que existe entre la deriva génica y la mutación y

para conocer esto se requerirá un análisis de variación genética entre diferentes generaciones. Puesto que la variación genética de los microsatélites de las ballenas jorobadas analizadas en este trabajo se examinó únicamente en términos de peso molecular (en pares de bases), sería conveniente precisar si dicha variación está determinada solamente por el número de pares de bases y/o por diferencias en sus secuencias nucleotídicas. Posiblemente, alelos de un mismo locus con idéntico peso molecular tengan diferentes secuencias.

En cada una de las tres zonas de reproducción del Pacífico mexicano también se observó una alta representatividad de la diversidad genética de toda la cuenca pacífica variando de 61% de aparición de todos los alelos en Bahía de Banderas (en donde se encuentran los menores polimorfismos) a 82% en Los Cabos (que presentan los mayores índices de polimorfismo). El patrón mencionado incluye, además de la representatividad de alelos, a la cantidad de alelos únicos, los índices de Nei, Shannon-Wiener y el número efectivo de alelos siendo estos últimos índices de diversidad muy similares entre las regiones y con valores variables entre loci. Estos resultados muestran uniformidad de la variación genética nuclear de las ballenas jorobadas del Pacífico en distintas escalas derivada de un alto flujo génico histórico y reciente pero también la existencia de heterogeneidades poblacionales regionales debidas a procesos de aislamiento poblacional resultado de las interglaciaciones (Medrano-González *et al.*, 2001). La mayor diversidad genética encontrada en las jorobadas de Baja California Sur ya se ha observado (Baker *et al.* 1998) y parece deberse a de que ésta es tanto una zona de tránsito por la que atraviesa una parte de los rorcuales jorobados que invernan en la costa continental (Calambokidis *et al.*, 2001; Urbán Ramírez, 2001) como un área de destino de ballenas provenientes de diferentes zonas de alimentación. La menor diversidad genética en la Bahía de Banderas sugiere que esta es una zona en la que se reproduce sólo una parte de las ballenas jorobadas que visitan el Pacífico mexicano. En el conjunto de todos los individuos examinados en el Pacífico mexicano se observa que el grado de polimorfismo para los loci tetrameros GATA es proporcional al tamaño molecular, esto es, para una muestra con una misma historia poblacional, nuevamente se nota una evolución molecular diferente entre loci lo que no contradice la asociación entre el grado de polimorfismo y el tamaño molecular del locus de manera que las diferencias entre loci más bien derivan de diferentes formas de mutación. Estudios *ad hoc* (p.ej. Whittaker *et al.*, 2003) también han

mostrado la asociación entre peso molecular y tasa de mutación aunque no es claro cual es la relación causal entre ellos, habiéndose sugerido que el número de repeticiones afecta las probabilidades de mutación en el tamaño de los microsatélites por deslizamiento (Nikitina y Nazarenko 2004).

La comparación de los loci analizados en este trabajo con diversas especies de cetáceos, indicó que son las ballenas jorobadas quienes hasta el momento presentan los mayores polimorfismos para esos loci debido probablemente a que las tasas de mutación son diferentes entre especies. También es factible que sea necesario realizar un mayor análisis en las diversas poblaciones de las distintas especies de cetáceos ya que, después de los rorcuales jorobados, las ballenas de aleta son las más estudiadas con microsatélites y quienes también presentan altos polimorfismos lo que sugiere que sea una característica de subpoblaciones con grandes tamaños poblacionales.

Comparados con el mtDNA (Robles Saavedra, en elaboración), los microsatélites, por ser marcadores nucleares, muestran poca diferenciación genética entre las tres zonas de reproducción del Pacífico mexicano aunque tal diferenciación es observable y con un patrón reconocible. El índice de subdivisión poblacional F_{st} indica que las ballenas que llegan a reproducirse en las aguas adyacentes a la Isla Socorro son un grupo distinto del conjunto de rorcuales de las zonas continentales lo cual es consistente con estudios previos de fotoidentificación y variación de mtDNA (Medrano-González *et al.*, 1995; Urbán *et al.*, 2000; Urbán Ramírez, 2001; Robles Saavedra, en elaboración). Los alelos únicos encontrados en estas ballenas también lo corroboran ya que hasta el momento no se han encontrado en los rorcuales de aguas continentales.

Entre las dos áreas de reproducción costeras del Pacífico mexicano la diferenciación genética es menor ya que existe movimiento de rorcuales entre ambas regiones continentales como también lo han mostrado los estudios de fotoidentificación (Urbán *et al.*, 2000; Calambokidis *et al.*, 2001; Urbán Ramírez, 2001). Sin embargo, al hacer una división estacional, se advierten en la primera etapa en Los Cabos y Bahía de Banderas a grupos de ballenas distintos a los de las demás etapas. En Los Cabos se distingue a un grupo de rorcuales diferente de otro que se observa tanto en la primera etapa como en la segunda en dicho lugar. En la Bahía de Banderas, la mayoría de las ballenas del primer periodo son disímiles de las de la siguiente etapa en ese mismo lugar pero parecidas a las del segundo en

Los Cabos. Esto sugiere que hay dispersión de los animales desde Los Cabos hacia otros lugares durante la primera etapa y luego entre las distintas zonas de reproducción así como el arribo subsiguiente de ballenas desde varias zonas de alimentación. Esto es acorde con la mezcla en el Pacífico mexicano de ballenas de diferentes regiones de alimentación aparente en los estudios de fotoidentificación pero al mismo tiempo con que tal mezcla es limitada. Es factible que existan ballenas que no atraviesen por Los Cabos para llegar a Bahía de Banderas o a otros sitios de reproducción dada la ausencia de determinados alelos en Los Cabos y las altas frecuencias de estos mismos en Bahía de Banderas a lo largo de la etapa inicial. La frecuencia de estos mismos alelos disminuye durante el segundo periodo en la Bahía de Banderas lo que sugiere que se trata de un grupo de rorcuales jorobados que arriba primeramente a la bahía y de allí se traslada a otros lugares diferentes a las zonas de estudio, probablemente hacia el sur de México y América Central.

El incremento en la diversidad en Bahía de Banderas en la segunda etapa se explica por la acumulación de animales que permanecen allí desde el primer periodo más los que siguen llegando durante el segundo. Los microsatélites señalan entonces la existencia de al menos dos grupos distintos de ballenas jorobadas en aguas continentales provenientes de diferentes regiones de alimentación. Estudios de variación de mtDNA (Robles Saavedra, en elaboración) señalan lo mismo aunque con un patrón de diferenciación distinto. La variación en el mtDNA indica que las ballenas de Los Cabos son una mezcla de rorcuales provenientes de Alaska suroriental con otras de California, en tanto que las de Bahía de Banderas son más parte de un subgrupo californiano (Medrano-González *et al.*, 1995; Urbán *et al.*, 2000). La mayor diversidad de todas las etapas y zonas se registra durante la última etapa en Los Cabos lo que sugiere la confluencia en ese sitio de los animales provenientes de distintas zonas de reproducción en retorno a diferentes áreas de verano lo que es acorde con lo previamente descrito mediante fotoidentificación (Calambokidis *et al.*, 2001). La similitud genética observada entre el segundo periodo en Bahía de Banderas y el tercero en Los Cabos es consistente con esta hipótesis.

Las comparaciones de datos agrupados pueden contener componentes de variación de dos o más factores que son difíciles de discernir debido a que el muestreo no fue completo entre regiones, entre años y entre las distintas etapas

invernales. El análisis de variación entre regiones (considerando el mismo año y la misma etapa) mostró disimilitudes entre las dos zonas costeras y entre Bahía de Banderas e Isla Socorro. Al unir la segunda etapa con la tercera, se observó una mayor variación entre las tres regiones, distinguiéndose mucho más la existente entre Los Cabos y la Bahía de Banderas. En la tercera etapa se notó una mayor variación entre las tres zonas de reproducción. De manera general la variación anual fue menor a la regional con excepción del año 1996 que fue muy distintivo. El análisis de la variación para la misma etapa en diferentes regiones y años mostró una considerable diferenciación entre los años 1992 y 1996 para la Isla Socorro lo que sugiere que durante la primera etapa en la Isla Socorro (etapa dos) arribaron rorcuales jorobados diferentes en los años 1992 y 1996. A pesar de no contarse con muestras de todas las regiones para todas las etapas y todos los años, los análisis indican que la variación genética de las ballenas jorobadas tiene un componente anual relativamente menor, esto es, que es muy probable que la mayoría de rorcuales realicen la migración desde sus lugares de alimentación correspondientes a las zonas de reproducción del Pacífico mexicano. La variación entonces, se presenta principalmente entre regiones distinguiéndose una zona insular (Archipiélago de Revillagigedo) y una continental (Los Cabos y Bahía de Banderas). Aparentemente en relación con la estructura espacial de las zonas de alimentación, en el Pacífico mexicano hay diferenciación entre las etapas invernales de las distintas zonas costeras debido a la existencia de al menos dos grupos diferentes provenientes de distintas zonas de alimentación.

Los microsatélites de las ballenas jorobadas que se reproducen en el Pacífico mexicano de manera general se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg, lo que concuerda con lo encontrado por Robles Saavedra (en elaboración) quien no halló alejamientos de este equilibrio con la poca resolución del análisis del sitio *Kpn I* del intrón 1 de la actina desarrollado por Palumbi y Baker (1994). Los microsatélites examinados muestran componentes poblacionales que se alejan del equilibrio como el locus GATA 417 que presenta desviaciones pequeñas asociadas a un menor grado de variación. Un alejamiento del equilibrio considerable se encuentra en Los Cabos en donde todas las F_{is} son positivas y relativamente grandes (ca. 0.1) debido probablemente al efecto Wahlund, esto es, a la existencia de dos o más componentes poblacionales que no se mezclan, particularmente en la tercera etapa, en donde es reducido el número de hembras en condición de

aparearse. Al igual que el grado de diversidad genética, el alejamiento del equilibrio descrito sugiere que la región de Los Cabos es una zona de tránsito de distintos componentes poblacionales de las ballenas jorobadas del Pacífico norte. Todas las F_{is} negativas son pequeñas y se presentan en dos loci en Bahía de Banderas y un locus en la Isla Socorro. En organismos como las ballenas, este resultado sugiere preferencias de apareamiento con individuos diferentes a los que se asocian en las áreas de alimentación. Alguna evidencia de esto por fotoidentificación ha sido propuesta por Perry *et al.* (1990) para las ballenas jorobadas de Hawai.

De manera general, las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano se acercan al equilibrio de Hardy-Weinberg aunque las diversas subpoblaciones exhiben alejamientos negativos y positivos de este equilibrio. Los valores de F_{is} obtenidos para las ballenas de la Isla Socorro en este trabajo difieren de los de Cerchio *et al.* (2005). Los datos de este trabajo (1991 a 1996) en general indican una leve endogamia. Los datos de Cerchio *et al.* (1997 a 2001) se basan en una muestra mucho mayor y tienden más hacia una ligera exogamia. Algunos estudios de fotoidentificación sugieren que las ballenas jorobadas de las Islas Revillagigedo son una población en crecimiento y probablemente subdividida entre las islas que conforman el archipiélago (Martínez Aguilar, en elaboración) de manera que es posible considerar un cambio en la endogamia asociado al crecimiento y fragmentación de la población que podría explicar las diferencias entre ambos estudios. Las pequeñas diferencias en el alejamiento al equilibrio Hardy-Weinberg igualmente pueden deberse a diferencias de muestreo. La diferencia más notoria entre ambos estudios es la del locus GATA 417 para el cual en este trabajo se obtuvo una endogamia considerable ($F_{is} = 0.203$) que parece derivar fundamentalmente de un exceso de homocigos en 1991 y 1992 los cuales fueron inviernos asociados a un evento de El Niño. En este periodo, los datos para este locus obtenidos en este trabajo arrojaron un valor $F_{is} = 0.68$ mientras que para los años 1995 y 1996, este valor fue $F_{is} = -0.04$ que es muy similar al de Cerchio *et al.* (2005). Se observa que en el periodo de 1991 y 1992 el alelo de GATA 417 con mayor frecuencia fue el 199 ($f = 0.43$) mientras que en el periodo de 1995 y 1996, el alelo con más frecuencia fue el 214 ($f = 0.29$). Así pues, se observan variaciones genéticas anuales asociadas al fenómeno del ciclo El Niño/La Niña y probablemente también estén relacionadas con cambios de abundancia y fragmentación derivados de la recuperación de la especie posterior a su caza comercial.

En las ballenas jorobadas, entre mayor es la riqueza de alelos, menores son las desviaciones observadas al equilibrio de Hardy-Weinberg. Igualmente el alejamiento es un poco menor con polimorfismos muy bajos. En general, las desviaciones positivas son mayores que las negativas y prácticamente las únicas en valores altos de polimorfismo. El menor alejamiento al equilibrio con altos polimorfismos puede derivar de un alto flujo génico que produce grandes tamaños poblacionales efectivos. En poblaciones subdivididas en unidades pequeñas con bajo polimorfismo también ocurre endogamia y como consecuencia, la presencia de valores altos del índice de endogamia. La curva de $F_{is} > 0$ en relación con el polimorfismo puede indicar por lo tanto, efectos de la subdivisión poblacional en la endogamia. La tendencia a valores más negativos de F_{is} con bajos polimorfismos puede derivar de que en poblaciones con tamaño poblacional efectivo reducido, ocurre desequilibrio de una mayor mutación con respecto a la deriva génica generando un efecto aparente de exogamia.

Por la gran variación que presentan los microsatélites es posible identificar individuos con la tipificación de varios loci. Tratándose sólo de los cuatro microsatélites examinados, la probabilidad de encontrar al azar individuos con el mismo genotipo en todo el Pacífico mexicano es $(\prod J_i^2) = 2.3 \times 10^{-6}$ por cada comparación pareada entre individuos donde J_i es la probabilidad de identidad de dos alelos tomados al azar en cada locus i . Para un tamaño de muestra de $n = 293$ individuos, hay 42,778 comparaciones pareadas lo que da una expectativa total de 0.1 comparaciones con el mismo genotipo. En el caso de las ballenas jorobadas analizadas en este trabajo, el reconocimiento individual se realizó además de con los cuatro microsatélites examinados, con el mtDNA, el intrón 1 de la actina y el sexo (Robles-Saavedra, en elaboración). Se encontraron siete pares de genotipos idénticos, seis de los cuales corresponden a muestras recolectadas el mismo día o en el mismo avistamiento por lo que se consideraron como capturas no independientes del mismo individuo. Un par de genotipos idénticos corresponde a una muestra recolectada en Los Cabos en 1993 y a otra en la Isla Socorro en 1995. Aunque tienen el mismo genotipo, cuatro loci no son suficientes para identificar perfectamente a los individuos, por lo que no se puede saber si se trata de una recaptura o de dos individuos con un genotipo igual porque no se tiene la identificación fotográfica de la muestra de 1993.

Aunque se conoce la mayor parte de las zonas de alimentación y de reproducción de las ballenas jorobadas en todo el mundo, todavía hay grupos cuyas áreas de procedencia se desconocen y de algunos se ha predicho incluso su composición de alelos y haplotipos (Baker *et al.*, 1998). Tal es el caso de los rorcuales jorobados que se reproducen en las Islas Revillagigedo. Los alelos únicos pueden ayudar a dilucidar este problema ya que se les ha utilizado como indicadores de localidades en otros mamíferos marinos como los osos polares, *Ursus maritimus*, en quienes se ha observado la existencia de genotipos característicos de regiones y poblaciones (Paetkau *et al.*, 1995). En el caso de las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano, entre los cuatro loci examinados se encontraron 19 alelos únicos, siete de los cuales son exclusivos de la Isla Socorro. El hallazgo de estos alelos en zonas de alimentación podría indicar las zonas de procedencia de las ballenas de Revillagigedo. Los alelos exclusivos que se sugieren buscar en las áreas de alimentación son los del locus GATA 417 por ser los más abundantes de su tipo en Isla Socorro. Alternativamente, el análisis de composición de ácidos grasos (López Montalvo, 2005) sugiere que las ballenas de Revillagigedo se alimentan en zonas cercanas a las áreas de alimentación de Alaska Suroriental.

En resumen, las ballenas jorobadas que se reproducen en el Pacífico mexicano representan la mayor parte de la diversidad genética nuclear de la especie en el océano Pacífico, siendo Los Cabos la zona de mayor polimorfismo por ser una zona de tránsito y destino migratorio. Las ballenas de la Isla Socorro se diferencian de las que llegan a aguas continentales en donde existen al menos dos grupos distintos de rorcuales jorobados provenientes de distintas regiones de alimentación y que arriban en dos etapas invernales diferentes, la primera probablemente en tránsito hacia destinos costeros al sur de México y Centroamérica. Se observan variaciones genéticas anuales probablemente asociadas al crecimiento y fragmentación poblacionales y también a cambios en los destinos migratorios por efecto de eventos El Niño y La Niña.

CONCLUSIONES

I.- En las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano se observaron 97 alelos entre cuatro loci de microsátelites lo que representa la mayor parte de la diversidad de estos marcadores genéticos registrada en la especie en el Océano Pacífico. Esto se debe a que el Pacífico mexicano es un área de reproducción en la que confluyen ballenas jorobadas de diferentes zonas de alimentación del Pacífico norte y a procesos históricos de flujo génico entre el Pacífico norte y sur. Esta diversidad también se asocia a la existencia de heterogeneidades poblacionales regionales y temporales dentro del Pacífico mexicano.

II.- En Los Cabos se presentaron los mayores índices de polimorfismo por ser una zona de tránsito y destino de rorcuales provenientes de diferentes zonas de alimentación. Sin embargo, no todas las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano parecen transitar por Los Cabos. La menor diversidad genética en la Bahía de Banderas indica que ésta es una zona por la que pasa sólo una parte de las ballenas jorobadas que visitan el Pacífico mexicano.

III.- Los microsátelites de las ballenas jorobadas que se reproducen en el Pacífico mexicano de manera general se aproximan al equilibrio de Hardy-Weinberg, con componentes poblacionales que se alejan de éste por efecto Wahlund y exogamia.

IV.- Existen dos grandes grupos de ballenas jorobadas que se reproducen en aguas del Pacífico mexicano: las que arriban al archipiélago de Revillagigedo y las que llegan a aguas continentales. En las ballenas de Revillagigedo se encuentran alelos exclusivos cuya identificación puede utilizarse para determinar las regiones de alimentación de este grupo de ballenas.

V.- En la Isla Socorro se observaron variaciones genéticas anuales asociadas al fenómeno del ciclo El Niño/La Niña y probablemente también estén ligadas a cambios de abundancia y fragmentación derivados de la recuperación de la especie posterior a su caza comercial.

VI.- En las zonas continentales existen al menos dos grupos distintos de rorcuales jorobados provenientes de diferentes regiones de alimentación y que arriban en etapas invernales diferentes. Existe una mayor diferenciación de un componente poblacional migratorio que se presenta al inicio del invierno y que parece desplazarse a otros lugares, posiblemente al sur de México y Centroamérica. Un segundo componente migratorio parece ser simplemente la acumulación de ballenas provenientes de diferentes sitios de alimentación que luego se mezclan también entre diferentes áreas de congregación invernal.

VII.- Las ballenas jorobadas del Pacífico mexicano mostraron un polimorfismo mayor al reportado para poblaciones de estos rorcuales en otras partes del mundo (con excepción de GATA 28) debido a que las áreas de reproducción mexicanas forman una zona en la que confluyen ballenas jorobadas de diferentes zonas de alimentación en el Pacífico norte.

VIII.- La comparación de los loci analizados en este trabajo con diversas especies de cetáceos, indicó que son las ballenas jorobadas quienes hasta el momento presentan los mayores polimorfismos para esos loci debido probablemente a que las tasas de mutación son diferentes entre especies o a que es una característica de subpoblaciones con grandes tamaños poblacionales.

LITERATURA CITADA

- Acevedo, A. y M.A. Smultea. 1995. FIRST RECORDS OF HUMPBACK WHALES INCLUDING CALVES AT GOLFO DULCE AND ISLA DEL COCO, COSTA RICA SUGGESTING GEOGRAPHICAL OVERLAP OF NORTHERN AND SOUTHERN HEMISPHERE POPULATIONS. *Mar. Mamm. Sci.*, 11(4):554-560.
- Alvarez, C., A. Aguayo, R. Rueda y J. Urbán. 1990. A NOTE ON THE STOCK SIZE OF HUMPBACK WHALES ALONG THE PACIFIC COAST OF MEXICO. *Rep. Int. Whal. Comm. Special Issue* 12:191-193.
- Amos, B. y A.R. Hoelzel. 1991. LONG-TERM PRESERVATION OF WHALE SKIN FOR DNA ANALYSIS. pp 99-103. En: Hoelzel, A.R. y G.P. Donovan (Eds). *Genetic ecology of whales and dolphins*. *Rep. Int. Whal. Comm. Special Issue* 13. Cambridge. 311 pp.
- Árnason, Ú. 1972. THE ROLE OF CHROMOSOMAL REARRANGEMENT IN MAMMALIAN SPECIES WITH SPECIAL REFERENCE TO CETACEA AND PINNIPEDIA. *Hereditas*, 70:113-118.
- Árnason, Ú. 1974. COMPARATIVE CHROMOSOME STUDIES IN CETACEA. *Hereditas*, 77,1-36.
- Árnason, Ú. 1981. LOCALIZATION OF NORs IN CETACEAN KARYOTYPES. *Hereditas*, 95:269-275.
- Árnason, Ú., K. Benirscke, J.G. Mead y W.W. Nichols. 1977. BANDED KARYOTYPES OF THREE WHALES: *Mesoplodon europeaus*, *M. carlhubbsi* AND *Balaenoptera acutorostrata*. *Hereditas*, 87:189-200.
- Árnason, Ú. y Widegren. 1984. DIFFERENT RATES OF DIVERGENCE IN HIGHLY REPETITIVE DNA OF CETACEANS. *Hereditas*, 101:171-177.
- Baker, C.S. 1992. GENETIC VARIABILITY AND STOCK IDENTITY OF HUMPBACK WHALES, WORLD-WIDE. *Rep. Int. Whal. Comm.* 45 pp.
- Baker, C.S, D.A. Gilbert, M.T. Weinrich, R. Lambertsen, J. Calambokidis, B. McArdle, G.K. Chambers y S.J. O'Brien. 1993. POPULATION CHARACTERISTICS OF DNA FINGERPRINTS IN HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*). *J. Hered.*, 84(4):281-290.
- Baker, C.S. y L.M. Herman. 1984. SEASONAL CONTRASTS IN THE SOCIAL BEHAVIOR OF THE HUMPBACK WHALE. *Cetus*, 5(2):14-16.
- Baker, C.S. y L.M. Herman. 1987. ALTERNATIVE POPULATION ESTIMATES OF HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*) IN HAWAIIAN WATERS. *Can. J. Zool.*, 65:2818-2821.

- Baker, C.S., R.H. Lambertsen, M.T. Weinrich, J. Calambokidis, G. Early y S.J. O'Brien. 1991. MOLECULAR GENETIC IDENTIFICATION OF THE SEX OF HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*). pp 105-111. En: Hoelzel, A.R. y G.P. Donovan (Eds). Genetic ecology of whales and dolphins. Rep. Int. Whal. Comm. Special Issue 13. Cambridge. 311 pp.
- Baker, C.S. y L. Medrano-González. 2002. WORLD-WIDE DISTRIBUTION AND DIVERSITY OF HUMPBACK WHALE MITOCHONDRIAL DNA LINEAGES. pp 84-99 En: C.J. Pfeiffer. Molecular and Cell Biology. of Mar. Mamm. Krieger. Melbourne, Fl.
- Baker, C.S., L. Medrano-González, J. Calambokidis, A. Perry, F. Pichler, H. Rosebaum, J.M. Straley, J. Urbán-Ramírez, M. Yamaguchi y O. von Ziegeler. 1998. POPULATION STRUCTURE OF NUCLEAR AND MITOCHONDRIAL DNA VARIATION AMONG HUMPBACK WHALES IN THE NORTH PACIFIC. *Mol. Ecol.*, 7:695-707.
- Baker, C.S., R.S. Palumbi, R.H. Lambserten, M.T. Weinrich, J. Calambokidis y S.J. O'Brien. 1990. INFLUENCE OF SEASONAL MIGRATION ON GEOGRAPHIC DISTRIBUTION OF MITOCHONDRIAL DNA HAPLOTYPES IN HUMPBACK WHALES. *Nature*, 344(6263):238-240.
- Baker, C.S., A. Perry, J.L. Bannister, M.T. Weinrich, R.B. Abernethy, J. Calambokidis, J. Lien, R.H. Lambertsen, J. Urbán-Ramírez, O. Vásquez y S.R. Palumbi. 1993. ABUNDANT MITOCHONDRIAL DNA VARIATION AND WORLD-WIDE POPULATION STRUCTURE IN HUMPBACK WHALES. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 90:8239-8243.
- Baker, C.S., A. Perry y L.M. Herman. 1987. REPRODUCTIVE HISTORIES OF FEMALE HUMPBACK WHALES *Megaptera novaeangliae* IN THE NORTH PACIFIC. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* MEPS/1347.
- Baker, C.S., R.W. Slade, J.L. Bannister, R.B. Abernethy, M.T. Weinrich, J. Lien, J. Urbán, P. Corkeron, J. Calambokidis, O. Vásquez y S.R. Palumbi. 1994. HIERARCHIAL STRUCTURE OF MITOCHONDRIAL DNA GENE AMONG HUMPBACK WHALES, *Megaptera novaeangliae*, WORLD-WIDE. *Mol. Ecol.*, 3:313-327.
- Balloux, F. y N. Lugon-Moulin. 2002. THE ESTIMATION OF POPULATION DIFFERENTIATION WITH MICROSATELLITE MARKERS. *Mol. Ecol.*, 11:155-165.
- Begon, M., J.L. Harper y C.R. Townsend. 2003 *ECOLOGY*. Blackwell Science. Oxford. 1068 pp.
- Berúbé, M., A. Aguilar, D. Dendanto, F. Larsen G. N. di Sciara, R. Sears, J. Sigurjónsson, J. Urbán y P.J. Palsbøll. 1998. POPULATION GENETIC STRUCTURE OF NORTH ATLANTIC, MEDITERRANEAN SEA AND SEA OF CORTEZ FIN WHALES, *Balaenoptera physalus* (LINNAEUS 1758): ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL AND NUCLEAR LOCI. *Mol. Ecol.*, 7:585-599.

- Bérubé, M., H. Jørgensen, R. Mcewing y P.J. Palsbøll. 2000. POLIMORPHIC DI-NUCLEOTIDE MICROSATELLITE LOCI ISOLATED FROM THE HUMPBACK WHALE, *Megaptera novaeangliae*. *Mol. Ecol.*, 9:2181-2183.
- Bérubé, M. M.B. Rew, H. Skaug, H. Jørgensen, J. Robbins, P. Best, R. Sears y P.J. Palsbøll. 2005. POLIMORPHIC MICROSATELLITE LOCI ISOLATED FROM HUMPBACK WHALES, *Megaptera novaeangliae*, AND FIN WHALE, *Balaenoptera physalus*. *Cons. Genetics*, 6:631-636.
- Bonner, W.N. 1980. Whales. Bradford Press. London. 278 pp.
- Brown, M.W., S.D. Kraus y D.E. Gaskin. 1991. REACTION OF NORTH ATLANTIC RIGHT WHALES (*Eubalaena glacialis*) TO SKIN BIOPSY SAMPLING FOR GENETIC AND POLLUTANT ANALYSIS. pp 81-89. En: Holzel, A.R. y G.P. Donovan (Eds). Genetic ecology of whales and dolphins. Rep. Int. Whal. Comm. Special Issue 13. Cambridge. 311 pp.
- Buchanan, F.C, M.K. Friesen, R.P. Littlejohn y J.W. Clayton. 1996. MICROSATELLITES FROM THE BELUGA WHALE *Delphinapterus leucas*. *Mol. Ecol.*, 5:571-5775.
- Calambokidis, J.C., G.. Steiger, J.M. Straley, L.M. Herman, S. Cerchio, D.R. Salden, J. Urbán R. J.K. Jacobsen, O. von Ziegesar, K.C. Balcomb, C.M. Gabriele, M.E. Dahleim, S. Urchida, G. Ellis, Y. Miyamura, P. Ladrón de Guevara P., M. Yamaguchi, F. Sato, S.A. Mizroch, L. Schlender, K. Rasmussen, J. Barlow y T.J. Quinn II. 2001. MOVEMENTS AND POPULATION STRUCTURE OF HUMPBACK WHALES IN THE NORTH PACIFIC. *Mar. Mamm. Sci.*, 17 (4):769:794.
- Campos Ramos, R., 1989. FOTOIDENTIFICACIÓN Y COMPORTAMIENTO DEL RORCUAL JOROBADO *Megaptera novaeangliae* (BOROWSKI, 1828) EN LAS AGUAS ADYACENTES AL ARCHIPIÉLAGO DE REVILLAGIGEDO, MÉXICO. (CETACEA: BALAENOPTERIDAE). Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 134 pp.
- Carwardine, M., E. Hoyt, R.E. Fordyce y P. Gill. 1998. WHALES, DOLPHINS AND PORPOISES. Reader's Digest. Australia. 288 pp.
- Cerchio, S., J.K. Jacobsen, D.M. Cholewiak, E.A. Falcone y A. Merriweter. 2005. PATERNITY IN HUMPBACK WHALES, *Megaptera novaeangliae*, ASSESSING POLYGyny AND SKEW IN MALE REPRODUCTIVE SUCCES. *Anim. Behav.*, 70:267-277.
- Chapman, D.G. 1974. STATUS OF ANTARCTIC RORQUAL STOCK. pp 218-238. En: Schevill., W.E. (Ed). The whale problem. Harvard University Press. Massachusetts. 419 pp.
- Chittleborough. R.G. 1955. REPRODUCTION IN MALE HUMPBACK WHALE (*Megaptera nodosa*) (BONATERRE). *Aust. J. Mar. Fresh. W. Res.*, 6(1):1-29.

- Chittleborough, R.G. 1958. THE BREEDING CYCLE OF THE FEMALE HUMPBACK WHALE (*Megaptera nodosa*) (BONATERRE). Aust. J. Mar. Fresh. W. Res., 9(1):1-18.
- Clapham, P.J. 1996. THE SOCIAL AND REPRODUCTIVE BIOLOGY OF HUMPBACK WHALES: AN ECOLOGICAL PERSPECTIVE. Mammal. Rev., 26:27-49
- Clapham P.J. y C.S. Baker. 2002. WHALING, MODERN. pp 1328-1332. En: Perrin, W.F., B. Würsig y J.G.M. Thewissen. (Eds). ENCYCLOPEDIA OF MARINE MAMMALS. Academic Press. U.S.A. 1414 pp.
- Clapham, P.J. y D.K. Matilla. 1993. REACTIONS OF HUMPBACK WHALES TO SKIN BIOPSY SAMPLING ON A WEST INDIES BREEDING GROUND. Mar. Mamm. Sci., 9(4):382-391.
- Clapham, P.J. y C.A. Mayo. 1987a. REPRODUCTION AND RECRUITMENT OF INDIVIDUALLY IDENTIFIED HUMPBACK WHALES, *Megaptera novaeangliae*, OBSERVED IN MASSACHUSETTS BAY, 1979-1985. Can. J. Zool., 65:2853-2863.
- Clapham, P.J., y P.J. Palsbøll. 1997. MOLECULAR ANALYSIS OF PATERNITY SHOWS PROMISCUOUS MATING IN FEMALE HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*, BOROWSKY). Proc. R. Soc. Lond. B, 264:95-98.
- Clapham, P.J., P.J. Palsbøll y D.K. Mattila. 1993. HIGH-ENERGY BEHAVIORS IN HUMPBACK WHALES AS A SOURCE OF SLOUGHED SKIN FOR MOLECULAR ANALYSIS. Mar. Mamm. Sci., 9(2):213-220.
- Clapham, P.J., P.J. Palsbøll, D.K. Mattila y O. Vasquez. 1992. COMPOSITION AND DYNAMICS OF HUMPBACK WHALE COMPETITIVE GROUPS IN THE WEST INDIES. Behavior, 122(3-4):182-194.
- Clarck, R. 1969. WHALING. pp 462-465. En: Benton, W. (Ed). Encyclopaedia Británica. Vol. XXIII. London. 1027 pp.
- Dalebout, M.L., G.M. Lento, F. Cipriano, N. Funahashi y C.S. Baker. 2002. HOW MANY PROTECTED MINKE WHALE ARE SOLD IN JAPAN AND KOREA? A CENSUS BY MICROSATELLITE DNA PROFILING. Anim. Cons., 5:143-152.
- Darling, J.D. y S. Cerchio. 1993. MOVEMENT OF HUMPBACK WHALE (*Megaptera novaeangliae*) BETWEEN JAPAN AND HAWAII. Mar. Mamm. Sci., 9(1):84-89.
- Darling, J.D., K.M. Gibson y G.K. Silber. 1983. OBSERVATIONS ON THE ABUNDANCE AND BEHAVIOR OF HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*) OFF WEST MAUI, HAWAII, 1977-79. pp 201-222. En: Payne, R. (Ed). Communication and behavior of whales. AAAS Selected Symposium 76. 643 pp.

- Dawbin, W.H. 1966. THE SEASONAL MIGRATORY CYCLE OF HUMPBACK WHALES. pp 145-170. En: Norris, K.S. (Ed). Whales, dolphins and porpoises. California University Press. Berkely, USA.
- Dawbin, W.H. 1997. TEMPORAL SEGREGATION OF HUMPBACK WHALES DURING MIGRATION IN SOUTHER HEMISPHERE WATERS. *Memoirs of the Queensland Museum*, 42(1):105-138.
- Duffield-Kulu, D., I. Veomett y R.S. Sparks. 1971. CYTOGENETIC COMPARISON OF FOUR SPECIES OF CETACEANS. *J. Mamm.*, 52(4):828:832.
- Ellis, R. 2002a. WHALING. pp 1310-1316. En: Perrin, W.F., B. Würsig y J.G.M. Thewissen. (Eds). *ENCYCLOPEDIA OF MARINE MAMMALS*. Academic Press. U.S.A. 1414 pp.
- Ellis, R. 2002b. WHALING TRADITIONAL. pp 1316-1328. En: Perrin, W.F., B. Würsig y J.G.M. Thewissen. (Eds). *ENCYCLOPEDIA OF MARINE MAMMALS*. Academic Press. U.S.A. 1414 pp.
- Garrigue, C., C.S. Baker, R. Dodemont y D. Steel. 2002. ESTIMATING THE ABUNDANCE OF HUMPBACK WHALES IN NEW CALEDONIA USING DNA GENOTYPING AND PHOTO-IDENTIFICATION. *IWC 54/SC/H9*.
- Garrigue, C., R. Dodemont, D. Steel y C.S. Baker. 2004. ORGANISMAL AND 'GAMETIC' CAPTURE-RECAPTURE USING MICROSATELLITE GENOTYPING CONFIRM LOW ABUNDANCE AND REPRODUCTIVE AUTONOMY OF HUMPBACK WHALES ON THE WINTERING GROUNDS OF NEW CALEDONIA. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 274:251-262.
- Glockner, D.A. 1983. DETERMINING THE SEX OF HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*) IN THEIR NATURAL ENVIRONMENT. pp 447-464. En: Payne, R. (Ed). *Communication and behavior of whales*. AAAS Selected Symposium 76. 643 pp.
- Glockner, D.A y S.C. Venus. 1983. IDENTIFICATION, GROWTH RATE, AND BEHAVIOR OF HUMPBACK WHALE (*Megaptera novaeangliae*) COWS AND CALVES IN THE WATERS OFF MAHUI, HAWAII, 1977.79. pp 223-258. En: Payne, R. (Ed). *Communication and behavior of whales*. AAAS Selected Symposium 76.
- Goldstein, D.B., A.R. Linares, L.L. Cavalli-Sforza y M.W. Feldman. 1995. AN EVALUATION OF GENETIC DISTANCES FOR USE WITH MICROSARTELLITE LOCI. *Genetics*, 139:463-471.
- Hartl, D.L. y A.G. Clarck. 1989. *PRINCIPLES OF POPULATION GENETICS*. Sinauer Associates Inc. Publishers. Massachussetts. 682 pp.
- Hoelzel, A.R. y G.A. Dover. 1987. MOLECULAR TECHNIQUES FOR EXAMINING GENETIC VARIATION AND STOCK IDENTITY IN CETACEAN SPECIES. *Rep. Int. Whal. Commn. (Special Issue 11)*: 81-120.

- Hoelzel, A.R., J.M. Hancock y G.A. Dover. 1991. EVOLUTION OF THE CETACEAN MITOCHONDRIAL D- LOOP REGION. *Mol. Biol. Evol.*, **8**(3):475-493.
- Holm Larsen, A., J. Sigurjónsson, N. Oien, G. Vikingsson y P. Palsboll. 1996. POPULATIONS GENETIC ANALYSIS OF NUCLEAR AND MITOCHONDRIAL LOCI IN SKIN BIOPSIES COLLECTED FROM CENTRAL AND NORTHEASTERN NORTH ATLANTIC HUMPBACK WHALE (*Megaptera novaeangliae*): POPULATION IDENTITY AND MIGRATORY DESTINATIONS. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **263**:1611-1618.
- Katona, S., B. Baxter, O. Brazier, S. Kraus, J. Perkins y H. Whitehead. 1979. IDENTIFICATION OF HUMPBACK WHALES BY FLUKE PHOTOGRAPHS. pp 33-44. En: Winn, H.E. y B.L. Olla (Eds). *Behavior of marine mammals current perspective*. Vol. 3. Cetaceans. Plenum Press. New York.
- Katona, S.K., J.A. Beard y K.C. Balcomb. 1982. THE ATLANTIC HUMPBACK FLUKE CATALOGUE. *Whalewatcher*, **16**(4):3-8.
- Katona, S.K. y H.P. Whitehead. 1981. IDENTIFYING HUMPBACK WHALES USING THEIR NATURAL MARKINGS. *Polar record*, **20**(128):439-444.
- Krebs, C.J. 1985. *ECOLOGIA*. Harper & Row Latinoamericana. México. 753 pp.
- Kovach, W.L. 1993. A MULTIVARIATE STATISTICS PACKAGE FOR THE IBM PC AND COMPATIBLES. Versión 2.1. Anglesey. Wales.
- Lambertsen, R.H. 1987. A BIOPSY SYSTEM FOR LARGE WHALES AND ITS USE FOR CYTOGENETICS. *J. Mamm.*, **68**(2):443-445.
- Lambertsen, R.H. y D.A. Duffield. 1987. BIOPSY STUDIES OF THE HUMPBACK WHALE, *Megaptera novaeangliae*. Report to the U.S. Marine Fisheries Service and the Scientific Committee International Whaling Commission. 72 pp.
- Lande, R. 1991. APPLICATIONS OF GENETICS TO MANEGEMENT AND CONSERVATION OF CETACEANS. pp 301-311. En: Holzel, A.R. y G.P. Donovan (Eds). *Genetic ecology of whales and dolphins*. Rep. Int. Whal. Comm. Special Issue 13. Cambridge. 311 pp.
- Leatherwood, S. y R.R. Reeves. 1983. THE SIERRA CLUB HANDBOOK OF WHALES AND DOLPHINS. Sierra Club Books. U.S.A. 302 pp.
- Li, W.H. 1997, MOLECULAR EVOLUTION. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Massachusetts.487 pp.
- López Motalvo, C.A. 2005. COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DEL TEJIDO SUBCUTÁNEO DE CUATRO BALLENAS JOROBADAS *Megaptera novaeangliae* (Borowski, 1871) EN LA COSTA PACÍFICA MEXICANA. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver. 161 pp.

- Lyrholm, T., O. Leimar, B. Johannesson y U. Gyllensten. 1999. SEX-BIASED DISPERSAL IN SPERM WHALES: CONTRASTING MITOCHONDRIAL AND NUCLEAR GENETIC STRUCTURE OF GLOBAL POPULATION. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 266:347-354.
- Martínez-Aguilar, S. En elaboración. MODELO POBLACIONAL DE LAS BALLENAS JOROBADAS DE LAS ISLAS REVILLAGIGEDO BASADO EN LA INCONGRUENCIA ENTRE ESTIMADORES DE ABUNDANCIA POR EL MÉTODO DE MARCAJE Y RECAPTURA. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 95 pp.
- Mathews, E.A., S. Keller y D.B. Weiner. 1988. A METHOD TO COLLECT AND PROCESS SKIN BIOPSIES FOR CELL CULTURE FROM FREE RANGING GRAY WHALES (*Eschrichtius robustus*). *Mar. Mamm. Sci.*, 4(1):1-12.
- Medrano-González, L. 1993. ESTUDIO GENÉTICO DEL RORCUAL JOROBADO EN EL PACÍFICO MEXICANO. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 95 pp.
- Medrano-González, L., A. Aguayo-Lobo, J. Urbán-Ramírez y C.S. Baker. 1995. DIVERSITY AND DISTRIBUTION OF MITOCHONDRIAL DNA LINAGES AMONG HUMPBACK WHALES, *Megaptera novaeangliae*, IN THE MEXICAN PACIFIC OCEAN. *Can. J. Zool.*, 73:1735-1743.
- Medrano-González, L., C.S. Baker, M.R. Robles-Saavedra, J. Murrel, M.J. Vázquez-Cuevas, B.C. Congdon, J.M. Straley, J. Calambokidis, J. Urbán-Ramírez, L. Flores-González, C. Olavarría-Barrera, A. Aguayo-Lobo, J. Nolasco-Soto, R.A. Juárez-Salas y K. Villavicencio-Llamosas. 2001. TRANS-OCEANIC POPULATION GENETICS STRUCTURE OF THE HUMPBACK WHALES IN THE NORTH AND SOUTH PACIFIC. *Mem. Queensland Mus.*, 47:465-479
- Medrano-González, L., M. Salinas-Zacarías, P. Ladrón de Guevara-Porras, A. Aguayo-Lobo, J. Jacobsen y C.S. Baker. 1994. SEX IDENTIFICATION OF HUMPBACK WHALES, *Megaptera novaeangliae*, ON THE WINTERING GROUNDS OF THE MEXICAN PACIFIC OCEAN. *Can. J. Zool.*, 72:1771-1774.
- Medway, W. 1983. EVALUATION OF THE SAFETY AND USEFULNESS OF TECHNIQUES AND EQUIPMENT USED TO OBTAIN BIOPSIES FROM FREE-SWIMMING CETACEANS. Final Report. U.S. Marine Mammal Commission for Purchase Order Number MM2324 809-8. 17 pp.
- Mobley, J.R. y L.M. Herman, 1985. TRANSIENCE OF SOCIAL AFFILIATIONS AMONG HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*) ON THE HAWAIIAN WINTERING GROUNDS. *Can. J. Zool.*, 63:762-772.
- National Marine Fisheries Services. Humpback Whale Recovery Team. 1991. FINAL RECOVERY PLAN FOR THE HUMPBACK WHALE (*Megaptera novaeangliae*). NOAA.

- Nei, M. 1987. MOLECULAR EVOLUTIONARY GENETICS. Columbia University Press. New York. 512 pp.
- Nielsen, R. y P.J. Palsbøll. 1999. SINGLE-LOCUS TEST OF MICROSATELLITE EVOLUTION: MULTI-STEP MUTATIONS AND CONSTRAINTS ON ALLELE SIZE. *Mol. Phyl. Evol.*, 11(3):477-484.
- Nikitina, T.V. y S.A. Nazarenko. 2004. HUMAN MICROSATELLITES: MUTATION AND EVOLUTION. *Russ. J. Gen.*, 40(10):1065-1079.
- Paetkau, D., W. Calbert, I. Stirling y C. Strobeck. 1995. MICROSATELLITE ANALYSIS OF POPULATION STRUCTURE IN CANADIAN POLAR BEARS. *Mol. Ecol.*, 4:347-354.
- Palsbøll, P.J., M. Bérubé, A.H. Larsen y H. Jørgensen. 1997. PRIMERS FOR THE AMPLIFICATION OF TRI- AND TETRAMER MICROSATELLITE LOCI IN BALEEN WHALES. *Mol. Ecol.*, 6:893-895.
- Palsbøll, P.J., M. Bérubé y H. Jørgensen. 1999. MULTIPLE LEVELS OF SINGLE-STRAND SLIPPAGE AT CETACEAN TRI- AND TETRANUCLEOTIDE REPEAT MICROSATELLITE LOCI. *Genetics*, 15:285-296.
- Palsbøll, P.J., P.J. Clapham, D.K. Matilla, F. Larsen, R. Sears, H.R. Siegismund, J. Sigujonsson, O. Vasquez y P. Arctander. 1995. DISTRIBUTION OF mtDNA HAPLOTYPES IN NORTH ATLANTIC HUMPBACK WHALES: THE INFLUENCE OF BEHAVIOR ON POPULATION STRUCTURE. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 116:1-10.
- Palumbi, R.S. y C.S. Baker. 1994. CONTRASTING POPULATION STRUCTURE FROM NUCLEAR INTRON SEQUENCES AND mtDNA OF HUMPBACK WHALES. *Mol. Biol. Evol.*, 11(3):426-435.
- Palumbi, S.R., A.P. Martin, B. Kessing y W.O. McMillan. 1991. DETECTING POPULATION STRUCTURE USING DNA MITOCHONDRIAL. pp 271-278. En: Hoelzel, A.R. y G.P. Donovan (Eds). Genetic ecology of whales and dolphins. *Rep. Int. Whal. Comm. Special Issue 13*. Cambridge. 311 pp.
- Payne, R.S. y S. Mc Vay. 1971. SONGS OF HUMPBACK WHALES. *Science*, 173(3997):585-597.
- Payne, R. y L.N. Guinee. 1983. HUMPBACK WHALE (*Megaptera novaeangliae*) SONGS AS INDICATOR OF "STOCKS". pp 333-359. En: Payne, R. (Ed.). Communication and behavior of whales. AAAS Selected Symposium 76. 643 pp.
- Payne, K., P. Tyack y R. Payne. 1983. PROGRESSIVE CHANGES IN THE SONGS OF HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*): A DETAILED ANALYSIS OF TWO SEASONS IN HAWAII. pp 9-57. En: Payne, R. (Ed.). Communication and behavior of whales. AAAS Selected Symposium 76. 643 pp.

- Perry, A., S. Baker y L.M. Herman. 1985. THE NATURAL HISTORY OF HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*) IN GLACIER BAY, ALASKA. Rep. Nation. Park. Ser. 44 pp.
- Perry, A., S. Baker y L.M. Herman. 1990. POPULATION CHARACTERISTICS OF INDIVIDUALLY IDENTIFY HUMPBACK WHALES IN THE CENTRAL AND EASTERN NORTH PACIFIC: A SUMMARY AND CRITIQUE. Rep. Int. Whal. Commn (Special Issue 12):307-317.
- Perry, S.L., D.P. DeMaster y G.K. Silver. (1999). THE GREAT WHALES: HISTORY AND STATUS OF SIX SPECIES LISTED AS ENDANGERED UNDER THE U.S. ENDANGERED SPECIES ACT OF 1973. Mar. Fish. Rev (Special Issue) , 61(1) : 1-74.
- Pomilla, C. y C. Rosembaum. 2006. ESTIMATES OF RELATEDNESS IN GROUPS OF HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*) ON TWO WINTERING GROUNDS OF THE SOUTHERN HEMISPHERE. Mol. Ecol., 15:2541-2555.
- Queller, D.C., J.E. Strassmann y C.R. Huges. 1993. MICROSATELLITES AND KINSHIP. TREE, 8(8):285-288.
- Raymond M. y F. Roussette. 1995. GENEPOP (VERSION 2.1) POPULATION SOFTWARE FOR EXACT TEST AND ECUMENISM. J. Hered., 86:248-250.
- Reeves, R.R., B.S. Stewart, P.J. Clapham y J.A. Powell. 2002. GUIDE TO MARINE MAMMALS OF THE WORLD. Chanticleer Press Inc. New York. 528 pp.
- Richard, K.R., H. Whitehead y J.M. Wright. 1996. POLIMORPHIC MICROSATELLITES FROM SPERM WHALES AND THEIR USE IN THE GENETIC IDENTIFICATION OF INDIVIDUALS FROM NATURALLY SLOUGHED PIECES OF SKIN. Mol. Ecol., 5: 313-315.
- Rice, D.W. 1974. WHALES AND WHALE RESEARCH IN THE EASTERN NORTH PACIFIC. pp 170-195. En: Schevill., W.E. (Ed). The whale problem. Harvard University Press. Massachusetts. 419 pp.
- Rice, D.W. 1977. THE HUMPBACK WHALE IN NORTH PACIFIC: DISTRIBUTION, EXPLOTATION AND NUMBERS. pp 29-44. En: Norris, K.S. y R. Reeves (Eds). Report on a workshop on problems related to humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) in Hawai. U.S. Marine Mammal Commission. Washington.
- Robles Saavedra, M.R. (En elaboración). VARIACIÓN GENÉTICA MITOCONDRIAL Y NUCLEAR DE LA BALLENA JOROBADA (*Megaptera novaeangliae*) EN EL PACÍFICO MEXICANO. Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.
- Robins, J.P. 1954. OVULATION AND PREGNANCY CORPORA LUTEA IN THE OVARIES OF THE HUMPBACK WHALE. Nature, 173(4396):201-203.
- Salas Rodarte, I.V. 1993. INTERVALOS DE REPRODUCCIÓN Y TASAS DE NACIMIENTO DE LAS BALLENAS JOROBADAS (*Megaptera novaeangliae*)

IDENTIFICADAS, EN DOS ÁREAS DE REPRODUCCIÓN DEL PACÍFICO MEXICANO, 1986-1991. Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 85 pp.

- Sambrook, E., F. Fritsch y T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning. Cold Spring Harbor Press. New York.
- Schneider, S., J.M. Kauffer, D. Roesslo y L. Excoffier. 1997. ARLEQUIN: AN EXPLORATORY POPULATION GENETICS SOFTWARE ENVIRONMENT. Version 1. Genetics and Biometry Lab, University of Geneva, Switzerland.
- Shinohara, M., X. Domingo-Roura y O. Takenaka. 1997. MICROSATELLITES IN THE BOTTLENOSE DOLPHIN *Tursiops truncatus*. Mol. Ecol., 6:695-696.
- Slatkin, M. 1995. A MEASURE OF POPULATION DIVISION BASED ON MICROSATELLITE ALLELE FREQUENCIES. Genetics, 139:457-462.
- Slijper, E.J. 1979. WHALES. Cornell University Press. New York. 511 pp.
- Stone, G.S., L. Flores-González y S. Katona. 1990. WHALE MIGRATION RECORD. Nature, 346(6286):705.
- Takezaki, N. y M. Nei. 1996. GENETIC DISTANCES AND RECONSTRUCION OF PHYLOGENETIC TREES FROM MICROSATELLITE DNA. Genetics, 144:389-399
- Tyack, P. 1981. INTERACTIONS BETWEEN SINGING HAWAIIAN HUMPBACK WHALES AND CONESPECIFICS NEARBY. Behav.Ecol. Sociobiol., 8:105-106.
- Urbán Ramírez, J.J. 2001. ESTRUCTURA POBLACIONAL, ABUNDANCIA Y DESTINOS MIGRATORIOS DE LAS BALLENAS JOROBADAS QUE INVIERNAN EN EL PACÍFICO MEXICANO. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 84 pp
- Urbán-Ramírez, J. y A. Aguayo-Lobo. 1987. SPATIAL AND SEASONAL DISTRIBUTION OF THE HUMPBACK WHALE, *Megaptera novaeangliae*, IN THE MEXICAN PACIFIC. Mar. Mamm. Sci., 3(4):333-344.
- Urbán R. J., C. Alvarez F., J. Jacobsen, K.C. Balcomb III, A. Jaramillo L., P. Ladrón de Guevara P. y A. Aguayo L. 1999. POPULATION SIZE OF HUMPBACK WHALE, *Megaptera novaeangliae*, IN WATERS OFF THE PACIFIC COST OF MEXICO. Fish. Bull., 97:1017-1024.
- Urbán R., J., A. Jaramillo L., A. Aguayo L., P. Ladrón de Guevara P, M. Salinas Z., C. Álvarez F., L. Medrano G., J.K. Jacobsen, K.C. Balcomb, D.E. Claridge, J. Calambokidis, G.H. Steiger, J.M. Straley, O. von Ziegar, J.M. Waite, S. Mizroch, M.E. Dahlheim, J.D. Darling y C.S. Baker. 2000. MIGRATORY DESTINATIONS OF HUMPBACK WHALES WINTERING IN THE MEXICAN PACIFIC. J. Cetacean Res. Manage., 2(2):101-110.

- Valdes, A.M., M. Slatkin y N.B. Freimer. 1993. ALLELE FREQUENCIES AT MICROSATELLITE LOCI: THE STEPWISE MUTATION MODEL REVISITED. *Genetics*, 133:737-749.
- Valsecchi, E., y W. Amos. 1996. MICROSATELLITE MARKERS FOR THE STUDY OF CETACEAN POPULATIONS. *Mol. Ecol.*, 5:151-156.
- Valsecchi, E., D. Glockner-Ferrari, M. Ferrari y W. Amos. 1998. MOLECULAR ANALYSIS OF THE EFFICIENCY OF SLOUGED SKIN SAMPLING IN WHALE POPULATION GENETICS. *Mol. Ecol.*, 7(10):1419-1422.
- Valsecchi, E., P. Hale, P. Corkeron y W. Amos. 2002. SOCIAL STRUCTURE IN MIGRATING HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*). *Mol. Ecol.*, 11:507-518.
- Valsecchi, E., P. Palsbøll, P. Hale, D. Glockner-Ferrari, M. Ferrari, P. Clapham, F. Larsen, D. Mattila, R. Sears, J. Sigurjonsson, M. Brown, P. Corkeron y B. Amos. 1997. MICROSATELLITE GENETIC DISTANCES BETWEEN OCEANIC POPULATIONS OF HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*). *Mol. Biol. Evol.*, 14(4):355-362.
- Watson, L. 1981. SEA GUIDE TO WHALES OF THE WORLD. E.P. Dutton. New York. 302 pp.
- Weinrich, M.T., R.H. Lambertsen, C.S. Baker, M.R. Schilling y C.R. Belt. 1991. BEHAVIOURAL RESPONSES OF HUMPBACK WHALES (*Megaptera novaeangliae*) IN THE SOUTHERN GULF OF MAINE TO BIOPSY SAMPLING. pp 91-97. En: Hoelzel, A.R. y G.P. Donovan (Eds). Genetic ecology of whales and dolphins. Rep. Int. Whal. Comm. Special Issue 13. Cambridge. 311 pp.
- Whittaker, J.C., R.M. Harbord, N. Boxall, I. Mackay, G. Dawson y R.M. Sibly. 2003. LIKELIHOOD-BASED ESTIMATION OF MICROSATELLITE MUTATION RATES. *Genetics*, 164:781-787.
- Whitehead, H. 1982. STRUCTURE AND STABILITY OF HUMPBACK WHALE GROUPS OFF NEWFOUNDLAND. *Can. J. Zool.*, 61:1391-1397.
- Zhivotovsky, L.A., M.W. Feldman y S.A. Grischechkin. 1997. BIASED MUTATIONS AND MICROSATELLITE VARIATION. *Mol. Biol. Evol.*, 14(9):926-933