



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

“Estructura y diversidad genética de *Natalus mexicanus* (Chiroptera: Natalidae) en México utilizando marcadores de ADN microsatélites”

**Tesis
Para obtener el título de:
Biólogo**

**Presenta:
ALINE MÉNDEZ RODRÍGUEZ**

Director de tesis: Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero

**Sinodales: Dr. Ricardo López Wilchis
Dr. Sergio Vaca Pacheco
Dr. Felipe Vaca Paniagua
Dr. Erasmo Negrete Abascal**

Los Reyes Iztacala; Edo. De México, 2015





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.

Dedicada a todas las personas
que han sido mi motivación y mi fortaleza.

AGRADECIMIENTOS

De manera muy especial le agradezco a mi mamá **María Esther Rodríguez Hernández** (la persona a la que más admiró), porque nunca me ha faltado su cariño, su paciencia y su apoyo incondicional en todas las decisiones que he tomado; a mi papá **Miguel Ángel Méndez Cabriada**, porque además de su cariño y apoyo, me ha enseñado el valor de la perseverancia; y a mi hermano **Michel Méndez Rodríguez**, porque lo quiero mucho.

Al **Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero**, por brindarme la gran oportunidad de desarrollar este proyecto, por el conocimiento que ha compartido conmigo y por el apoyo constante y la libertad que me brindo en el desarrollo de este y otros proyectos.

Al **Dr. Ricardo López Wilchis**, por permitirme integrarme al laboratorio de Biología y Ecología de Mamíferos de la UAM, por compartir sus conocimientos sobre los murciélagos, por sus comentarios y enseñanzas, que ayudaron a mejorar el contenido y estructura de la tesis.

A la **Dra. Alejandra Serrato Díaz** por el gran apoyo que me brindó durante el trabajo realizado en el Laboratorio Divisional de Biología Molecular de la UAM, compartiendo conmigo su conocimiento y experiencia sobre técnicas de biología molecular y genética de poblaciones. Pero sobre todo por la amistad que siempre me ha brindado, en la que siempre encontré confianza y por ese ambiente en el laboratorio que siempre me hizo sentir tan a gusto y con ánimos de trabajar.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio Divisional de Biología Molecular que siempre hicieron tan ameno trabajar en el laboratorio: **Víctor Velásquez, Luis Guillermo Constante Pérez, Eloísa Pacheco Almanzar, Araceli Maya Hernández, Dafne Gri Zarate Martínez, Mayela Flores Romero y Kinberly Montserrat Barrios Gómez.**

A todos los integrantes del laboratorio de Biología y Ecología de Mamíferos, que trabajaron en campo y que con su esfuerzo se pudo llevar a cabo este proyecto.

A **Rosa María García Martínez, Angélica Colín Martínez y Kinberly Montserrat Barrios Gómez**, por su experiencia, conocimiento y paciencia, que permitieron aclararme muchas dudas al inicio, durante y al final de este proyecto.

Especialmente agradezco a **Dafne Gri Zarate Martínez**, que me contactó con el Dr. Luis Manuel Guevara Chumacero y que sin ella no hubiera realizado esta tesis ni haber podido conocer a tan lindas personas.

A mis amigos de la FES Iztacala **Edgar Hernández Amador, Gabriela Mahalet Lozada Aranda, Diana Verónica Medina, Mauricio Santiago Hernández, Sayil Cruz Toscano y Francisco Amador Cruz**, por su apoyo, amistad y todos los buenos momentos que me han brindado a lo largo de toda la carrera y que ha sido muy importantes para mí.

A todos mis profesores de la FES Iztacala por todo lo que me enseñaron.

Agradezco también al **Dr. Erasmo Negrete Abascal**, al **Dr. Sergio Vaca Pacheco** y al **Dr. Felipe Vaca Paniagua** por la evaluación de la presente tesis, así como a sus valiosas correcciones y comentarios.

A mi compañero de vida **Fernando Salgado Mejía**, por creer en mí y darme ánimos para seguir adelante.

Finalmente a CONACYT No. 128459 por financiar este proyecto

RESUMEN

En el presente estudio se analizó la estructura y diversidad genética actual de *Natalus mexicanus* en México utilizando 10 loci de microsatélites, un aspecto importante para entender cómo las fuerzas evolutivas y la biología de la especie influyen actualmente en el mantenimiento de la variación genética de sus poblaciones.

El análisis de asignación de individuos realizado con el programa STRUCTURE, distribuyó a los individuos en tres grupos diferenciados, esta estructuración es apoyada por el análisis de correspondencia factorial, el AMOVA, las distancias genéticas de Nei y el flujo genético. Uno de estos grupos se encuentra en Baja California Sur y dos en la región del centro y sur del país, posiblemente delimitados por la Sierra Madre Oriental y el Golfo de California, estos grupos presentaron localidades que comparten el mismo tipo de clima y vegetación, este patrón puede deberse a preferencias de hábitat.

También se encontró un alto número de migrantes entre localidades del Golfo de México con una localidad del Pacífico, sugiriendo que la Depresión del Balsas podría estar funcionando como un corredor biológico para esta especie, que aparentemente puede llegar a desplazarse distancias amplias, pero posiblemente con varias escalas.

N. mexicanus presenta una alta diversidad genética en las localidades de estudio ($H_O=0.532$, $H_E=0.675$ y $H_{NEI}=0.696$), posiblemente por su capacidad de dispersión. Sin embargo se identificaron dos localidades con una menor diversidad genética, Mina Polar en Baja California Sur y San Sebastián en Oaxaca, debido a un flujo limitado de genes y por endogamia ($F_{IS}=0.444$ y $F_{IS}=0.410$ respectivamente), que puede ser propiciada en el caso de la localidad de San Sebastián por la topografía, debido a que se encuentra inmerso en la Sierra Madre del Sur, mientras que la localidad de Mina Polar se encuentra aislada por el Golfo de California.

ABSTRACT

In the present study they analyzed the current of structure and diversity genetic of *Natalus mexicanus* in Mexico using 10 microsatellite loci, an important aspect to understand how evolutionary forces and biology of the species influence actual in maintaining genetic variation in populations.

The analysis for detecting the number of clusters of individuals with the software STRUCTURE, distributed to individuals in three different clusters, this structure is supported by the factorial correspondence analysis, the AMOVA, the genetic distances of Nei and the gene flow. One of these groups is located in Baja California Sur and two in the central and southern of the country, possibly delimited by the Sierra Madre Oriental and the Gulf of California, these groups presented localities they share the same type of climate and vegetation, this pattern may be due to habitat preferences.

It was also found a high number of migrants between localities in the Gulf of Mexico with a locality in the Pacific, suggesting that the Depression of the Balsas could be functioning as a biological corridor for this species, you can apparently get to move long distances but possibly with various scales.

N. mexicanus presents a high genetic diversity in the localities of study ($H_O=0.532$, $H_E=0.675$ and $H_{NEI}=0.696$), possibly for their capacity for dispersion. However two localities with lower genetic diversity were identified, Mina Polar in Baja California Sur and San Sebastián in Oaxaca, due to limited gene flow and inbreeding ($F_{IS}=0.444$ and $F_{IS}=0.410$ respectively), which can be propitiated in the case of the locality of San Sebastián by topography, due to it is immersed in the Sierra Madre del Sur, while the locality of Mina Polar is isolated by the Gulf of California.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEORICO.....	3
2.1. GENÉTICA DE POBLACIONES.....	3
2.2. MARCADORES MOLECULARES.....	4
2.3. MICROSATÉLITES.....	5
2.4. ESTRUCTURA GENÉTICA.....	6
2.4.1. POBLACIONES.....	6
2.4.2. ANÁLISIS FACTORIAL DE CORRESPONDENCIAS (AFC).....	7
2.4.3. ANÁLISIS DE VARIANZA MOLECULAR (AMOVA).....	7
2.4.4. ESTADÍSTICOS F DE WRIGHT.....	7
2.4.5. DISTANCIAS GENÉTICAS.....	8
2.4.6. FLUJO GENÉTICO.....	9
2.5. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	10
2.5.1. ALELOS EFECTIVOS (N_e).....	10
2.5.2. FRECUENCIAS ALÉLICAS.....	10
2.5.3. RIQUEZA ALÉLICA.....	10
2.5.4. HETEROCIGOSIS OBSERVADA (H_o).....	11
2.5.5. HETEROCIGOSIS ESPERADA (H_E).....	11
2.6. ESPECIE DE ESTUDIO	12
2.6.1. HISTORIA TAXONÓMICA.....	12
2.6.2. DESCRIPCIÓN.....	12
2.6.3. ANTECEDENTES GENÉTICOS.....	15
3. JUSTIFICACIÓN.....	16
4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	16
5. HIPÓTESIS.....	16
6. OBJETIVOS.....	17
6.1. OBJETIVO GENERAL.....	17
6.2. OBJETIVOS PARTICULARES.....	17
7. ÁREA DE ESTUDIO.....	18
8. MATERIAL Y MÉTODO.....	20
8.1. TRABAJO DE CAMPO.....	20

8.2. TRABAJO DE LABORATORIO.....	21
8.2.1. EXTRACCIÓN DE ADN TOTAL.....	21
8.2.2. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	21
8.2.3. DETERMINACIÓN Y LECTURA DE MICROSATÉLITES.....	24
8.3. ANÁLISIS DE DATOS.....	24
8.3.1. EVALUACIÓN DE LOS LOCI.....	24
8.3.2. ESTRUCTURA GENÉTICA.....	25
8.3.3. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	27
9. RESULTADOS.....	28
9.1. EVALUACIÓN DE LOS LOCI.....	28
9.2. ESTRUCTURA GENÉTICA.....	31
9.3. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	42
10. DISCUSIÓN.....	46
10.1. EVALUACIÓN DE LOS LOCI.....	46
10.2. ESTRUCTURA GENÉTICA.....	47
10.3. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	53
11. CONCLUSIONES.....	56
12. RECOMENDACIONES.....	57
13. LITERATURA CITADA.....	58
14. ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Localidades de colecta. Tamaño de muestra (N); Clima: Seco muy cálido (BS ₀ h), Cálido subhúmedo (Aw), Templado subhúmedo (Cw), Carta Climatológica a escala 1:1,000,000 (INEGI, 2009); Vegetación circundante Matorral Sarcocaula (MSC), Selva Baja Caducifolia (SBC), Bosque de Pino-Encino (BPQ), Carta de Vegetación y Uso del Suelo a escala 1:1,000,000 (INEGI, 2009).....	18
Cuadro 2. Primers de microsatélites nucleares diseñados para <i>Natalus mexicanus</i> con la secuencia M13 incorporada y fluoróforo con que se marcó el primer (F)...	22
Cuadro 3. Condiciones de amplificación del termociclador.....	23
Cuadro 4. Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg por locus. Locus en desequilibrio de Hardy-Weinberg (*); Probabilidad de desviación del equilibrio (P); Índice de F _{IS} de W&C.....	28
Cuadro 5. Presencia de alelos nulos por locus y localidad. Ausencia de alelos nulos (0); Presencia de alelos nulos (1).....	29
Cuadro 6. Valores de F _{ST} por locus con y sin corrección ENA.....	30
Cuadro 7. Distancias genéticas entre pares de poblaciones con y sin corrección ENA.....	30
Cuadro 8. Resultados obtenidos del análisis de varianza molecular con base en F _{ST} y R _{ST} , por localidades. Coeficiente de diferenciación genética entre localidades (F _{ST}); Coeficiente de endogamia dentro de las localidades (F _{IS}); Coeficiente de endogamia total (F _{IT}).....	36
Cuadro 9. Resultados obtenidos del análisis de varianza molecular con base en F _{ST} y R _{ST} , por grupo. Coeficiente de endogamia dentro de las localidades (F _{IS});	

Coeficiente de endogamia total (F_{IT}); Coeficiente de variación entre grupos (F_{CT}); Coeficiente de variación entre localidades dentro de grupos (F_{SC}).....	37
Cuadro 10. Matriz con valores de las distancias genéticas de Nei, por cada localidad.....	38
Cuadro 11. Matriz con valores de las distancias genéticas de Nei, por grupo.....	39
Cuadro 12. Número de migrantes efectivos por generación (N_m) de acuerdo a la F_{ST} y R_{ST} , entre localidades.....	40
Cuadro 13. Número de migrantes efectivos por generación (N_m) de acuerdo a la F_{ST} y R_{ST} , entre grupos genéticos.....	41
Cuadro 14. Medidas de diversidad genética para cada localidad de <i>Natalus mexicanus</i> . Heterocigosis observada (H_O); Heterocigosis esperada (H_E); Heterocigosis esperada de Nei (H_{NEI}).....	43
Cuadro 15. Medidas de diversidad genética para cada grupo de <i>Natalus mexicanus</i> . Matorral Sarcocaula (MSC); Selva Baja Caducifolia (SBC); Bosque de Pino-Encino (BPQ); Heterocogosis esperada (H_O); Heterocigosis esperada (H_E); Heterocigosis esperada de Nei (H_{NEI}).....	45
Cuadro 16. Valores de F_{ST} y R_{ST} en diferentes especies de murciélagos utilizando microsatelites.....	48
Cuadro 17. Valores obtenidos en diferentes mamíferos utilizando microsatelites. Heterocigosis esperada (H_E).....	54
Cuadro 18. Medidas de diversidad genética para diferentes murciélagos utilizando microsatélites. Número de loci de microsatélites (# loci); Número de individuos (N); Heterocogosis observada (H_O); Heterocigosis esperada (H_E); Heterocigosis esperada de Nei (H_{NEI}).....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplar de <i>Natalus mexicanus</i> (Foto: tomada por Guevara-Chumacero Luis Manuel).....	14
Figura 2. Distribución geográfica de <i>Natalus mexicanus</i> . Modificado de Torres-Flores (2013).....	14
Figura 3. Ubicación de las siete localidades donde se recolectaron muestras de <i>Natalus mexicanus</i> , en gris se indica la distribución geográfica de <i>N. mexicanus</i> en México (modificado de Tejedor, 2011).....	19
Figura 4. Análisis de estructura genética para <i>Natalus mexicanus</i>	32
Figura 5. Ubicación de las siete localidades donde se recolectaron muestras de <i>Natalus mexicanus</i> , indicando a que grupo pertenecen, de acuerdo al análisis STRUCTURE.....	32
Figura 6. Prueba estadística propuesta por Evanno.....	33
Figura 7. Análisis factorial de correspondencias de individuos de <i>N. mexicanus</i> en 2D.....	34
Figura 8. Análisis factorial de correspondencias de individuos de <i>N. mexicanus</i> en 3D.....	34
Figura 9. Dendograma construido con base en las distancias genéticas de Nei entre localidades empleando el algoritmo UPGMA.....	39
Figura 10. Refugios de <i>Natalus mexicanus</i> reportados en la bibliografía (•); El área sombreada representa su distribución geográfica en México. Modificado de Torres-Flores y López-Wilchis (2010).....	52

1. INTRODUCCIÓN

Los murciélagos son el segundo orden más diverso en México, que constituyen un grupo de gran variedad morfológica y taxonómica, con 138 especies, representadas en nueve familias (Medellín *et al.*, 2008), una de estas familias es Natalidae que comprende un conjunto de murciélagos insectívoros neotropicales, que se caracterizan por presentar orejas grandes en forma de embudo y los machos presentan una estructura glandular que se conoce como órgano natárido (Tejedor *et al.*, 2011). Actualmente en México se reconoce la presencia de una sola especie de la familia Natalidae, el murciélago oreja de embudo mexicano *Natalus mexicanus* (López-Wilchis *et al.*, 2012), que presenta una distribución desde el norte de México hasta Panamá (Tejedor *et al.*, 2011).

La mayor parte de los estudios realizados para el género *Natalus* se han dedicado principalmente a examinar aspectos taxonómicos, macroevolutivos y de relaciones filogenéticas (Dalquest y Hall, 1949; Arroyo-Cabrales *et al.*, 1997; Dávalos, 2005; Tejedor *et al.*, 2005; Tejedor, 2006; López-Wilchis *et al.*, 2012). Entre los estudios genéticos que se han realizado para *Natalus mexicanus*, se encuentra el de Arroyo-Cabrales y colaboradores en 1997, que realizaron un análisis de variación genética utilizando aloenzimas e identificaron una diferenciación entre el norte y sur de México, que es atribuida a la diversidad de condiciones ecológicas y ambientales en las que se encuentra la especie; mientras que López-Wilchis y colaboradores en 2012, utilizando marcadores mitocondriales, observaron tres clados, un primer clado que corresponde a los estados de Chiapas, Veracruz y Tamaulipas, un segundo clado en la vertiente del Pacífico (Baja California Sur, Guerrero, Colima y Jalisco) y un último clado en el valle central de Oaxaca.

Estos estudios genéticos intraespecíficos son importantes para entender cómo las fuerzas evolutivas y la biología de la especie, influyen en el mantenimiento de la diversidad y estructura genética de sus poblaciones, esta variación genética es importante debido a que confiere la capacidad a las poblaciones naturales de adaptarse a los cambios en el medio ambiente (Jiménez y Collada, 2000; Frankham *et al.*, 2005).

La variación genética pueden estimarse mediante marcadores moleculares, estas herramientas se basan en la diferenciación de las frecuencias alélicas entre diferentes poblaciones (Becerra y Paredes, 2000); esta variación genética, también conocida desde el punto de vista molecular como polimorfismo, es derivada de cambios espontáneos en el ADN (Eguiarte *et al.*, 2007).

Entre los marcadores moleculares, los microsatélites o STR (Short Tandem Repeat) se han convertido en una herramienta muy útil para la genética de poblaciones, debido a que son abundantes, están distribuidos regularmente en el genoma, son codominantes, selectivamente neutros y presentan una alta tasa de mutación (González, 2003). Esta última característica genera una mayor diversidad alélica, condición necesaria para el estudio de procesos genéticos que actúan en escalas de tiempo ecológico, de manera que permiten responder preguntas relacionadas con la variabilidad genética reciente de las poblaciones y los procesos que actúan sobre ella (flujo genético, deriva, endogamia) (González, 2003; Selkoe y Toonen, 2006).

Es por ello que en el presente estudio se pretende determinar la estructura y diversidad genética actual de *Natalus mexicanus*, en México, utilizando microsatélites nucleares lo permitirá conocer la estructura y la diversidad genética reciente de *Natalus mexicanus* en México y saber si existe una relación con la variación genética observada por Arroyo-Cabrales *et al.*, (1997) que utilizaron aloenzimas o los linajes reportados por López-Wilchis *et al.*, (2012) realizado con marcadores mitocondriales. Además permitirá conocer más acerca de la capacidad de dispersión y de migración de este murciélago.

2. MARCO TEORICO

2.1. GENÉTICA DE POBLACIONES

La genética de poblaciones es una disciplina que se encarga de estimar y comprender la variación y estructura genética de las poblaciones y a partir de ésta inferir eventos evolutivos (mutación, deriva génica, migración y selección natural), que han modulando la distribución de los genes en y entre las poblaciones, la influencia de estas fuerzas evolutivas varía dependiendo de los factores geográficos, conductuales, ecológicos, etc. (Spide *et al.*, 1984).

Estas fuerzas evolutivas son: la mutación que es la fuente primaria de la variación genética, la migración que permite el flujo del material genético entre las poblaciones, la deriva genética que disminuye la variación debido a fluctuaciones fortuitas en las frecuencias de los alelos y la selección natural que acumula y mantiene los genotipos favorables en una población (Eriksson, 2000).

PRINCIPIO DE HARDY-WEINBERG

El principio de Hardy-Weinberg es una relación matemática que describe el comportamiento de las frecuencias genotípicas de un locus mediante una función binomial (2 alelos) o multinomial (varios alelos) y se expresa como la siguiente formula:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Este principio se cumple cuando no actúan las fuerzas evolutivas:

1. Los apareamientos son totalmente al azar (panmixia).
2. Las poblaciones son infinitamente grandes (no hay deriva génica).
3. No hay alelos nuevos (no hay mutación ni migración).
4. Todos los individuos tienen la misma probabilidad de sobrevivir, y dejar descendencia (no hay selección natural) (Hamilton, 2009).

Al analizar cómo se comportan las frecuencias alélicas con respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg, se puede determinar si las fuerzas evolutivas están actuando

en la población, de manera que es necesario realizar otros análisis que ayuden a identificarlas (Hedrick, 2005).

Cuando se utilizan marcadores moleculares como los microsatélites, es importante considerar que además de las fuerzas evolutivas la presencia de alelos nulos y desequilibrio de ligamiento, pueden provocar una desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg, debido a una mala interpretación de los datos; debido a que la presencia de alelos nulos provoca una sobreestimación de los genotipos homocigotos por la ausencia de amplificación de un alelo, debido a problemas en la PCR o por mutaciones en la región de alineamiento de los primers (Van Oosterhout *et al.*, 2004), mientras que el desequilibrio de ligamiento se puede presentar cuando dos o más alelos se encuentran en una posición muy cercana dentro de un cromosoma y la segregación no es independiente, provocando que sus frecuencias alélicas y genotípicas se comporten de la misma manera, es decir que estén asociados estadísticamente (Hedrick, 2005).

2.2. MARCADORES MOLECULARES

Los marcadores moleculares se definen como proteínas, genes o fragmentos de ADN que permiten distinguir entre diferentes taxa, entre poblaciones, e incluso a un nivel más detallado de líneas familiares e individuos (Hancock, 1999). Las diversas técnicas basadas en ADN permiten el análisis de las diferencias en las secuencias del ADN entre los individuos y a partir de estos datos es posible analizar patrones y procesos ecológicos-evolutivos a diferentes escalas espaciales y temporales, dependiendo del tipo de marcador (Cornejo *et al.*, 2014).

Entre los marcadores genéticos más utilizados se encuentran: los fragmentos de restricción de longitud polimórfica o Restriction fragment length polymorphism (RFLPs), el ADN polimórfico amplificado al azar o Random amplified polymorphic DNAs (RAPDs), los fragmentos amplificados de longitud polimórfica o Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLPs) y las secuencias repetidas cortas o Simple Sequence Repeats (SSR), que en los últimos años se han convertido en

los marcadores co-dominates más empleados (Eguiarte *et al.*, 2007; González, 2003).

2.3. MICROSATÉLITES

Los microsatélites o STR (Short Tandem Repeat) o SSR (Simple Sequence Repeats), se definen como una secuencia corta de 1 a 6 nucleótidos que se repite cierto número de veces, esta variación en el número de repeticiones da lugar a los diferentes alelos (Tautz, 1989). Los microsatélites puede estar compuestos por repeticiones del mismo nucleótido (mononucleótidos), por dos (dinucleótidos), por tres (trinucleótidos) y así hasta seis nucleótidos (hexanucleótidos) y pueden ser considerados perfectos (compuestos por un único motivo repetido), compuestos (conformados por dos o más motivos repetidos) o interrumpidos (cuando un nucleótido o más se insertan en alguna parte de la repetición) (Cornejo *et al.*, 2014).

Estos marcadores se encuentran ampliamente distribuidos en regiones no codificantes y en baja frecuencia en regiones codificantes y son muy abundantes en los genomas nucleares de todos los eucariotas, en algunos procariotas, e incluso se han identificado en genomas de mitocondrias y cloroplastos (González, 2003; Cornejo *et al.*, 2014).

Los modelos que se han considerado más relevantes para explicar la evolución de los microsatélites son tres: 1. Modelo de alelos infinitos (Infinite Allele Model, IAM) en el cual todos los alelos diferentes son considerados como nuevas variantes y asume que los procesos de inserción y deleción pueden involucrar más de dos nucleótidos, por lo tanto el resultado no depende del estado alélico previo de la población; 2. Modelo del salto mutacional (Stepwise Mutation Model, SMM) que implica que las mutaciones suponen la pérdida o ganancia de una sola unidad de repetición, y por lo tanto, las mutaciones dependen del estado ancestral y es el modelo más aceptado para los microsatélites; 3. Modelo de mutación de dos fases

(Two Phase Model, TMP) que asume que pueden ocurrir mutaciones por pasos y también mutaciones de mayor magnitud (González, 2003; Cornejo *et al.*, 2014).

Los microsatélites son marcadores moleculares altamente informativos, debido a que presentan un alto grado de polimorfismo, que es una consecuencia de una elevada tasa de mutación que se ha estimado entre 10^{-2} y 10^{-6} por generación en microsatélites nucleares (Eguiarte *et al.*, 2007), que se atribuye a eventos de inserción y delección durante la replicación del ADN (Cornejo *et al.*, 2014). Además estos marcadores son codominantes (es posible discernir los genotipos homocigotos y heterocigotos), selectivamente neutros y es posible trabajar con reducidas cantidades de ADN e incluso con ADN en estado avanzado de degradación, por lo que se consideran marcadores moleculares óptimos para el desarrollo de estudios de genética de poblaciones a una escala ecológica (Selkoe y Toonen, 2006).

2.4. ESTRUCTURA GENÉTICA

La estructura genética de las poblaciones se define como la cantidad de variación genética y su distribución dentro y entre las poblaciones, esta estructura se encuentra determinada por procesos genéticos como la selección, la recombinación y la mutación (Slatkin, 1994). Existen varias maneras de cuantificar el grado de estructuración y diferenciación genética en un conjunto de poblaciones y se basan en analizar las diferencias en las frecuencias alélicas (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005).

2.4.1. POBLACIONES

Para inferir la estructuración poblacional, al identificar las distintas poblaciones genéticas cuando se emplean microsatélites, comúnmente se utiliza un análisis de agrupación bayesiano con el programa STRUCTURE. Este método asigna los individuos probabilísticamente a diferentes grupos sin necesidad de conocer a

priori las unidades y/o límites poblacionales, este modelo asume que los marcadores no presentan desequilibrio de ligamiento (Pritchard *et al.*, 2000).

2.4.2. ANÁLISIS FACTORIAL DE CORRESPONDENCIAS (AFC)

Es un análisis canónico multivariado, que permite visualizar cada individuo genotificado en una gráfica construida a partir de las frecuencias alélicas de cada localidades de estudio, observados como una nube de puntos dispuestos según su conjunto de alelos y así identificar entidades genéticas independientemente de los datos geográficos (Belkhir *et al.*, 2004).

2.4.3. ANÁLISIS DE VARIANZA MOLECULAR (AMOVA)

Es un análisis de la varianza (ANOVA), pero anidado que define estadísticos análogos a la F_{ST} , permitiendo determinar la cantidad de variabilidad genética en diferentes niveles jerárquicos, analizando la varianza dentro y entre subgrupos y grupos. Este análisis resulta menos sesgado que una estimación de F_{ST} que a menudo depende de la cantidad de variación genética dentro de la población (Excoffier *et al.*, 2005; Meirmans, 2006; Piñero *et al.*, 2008).

2.4.4. ESTADÍSTICOS F DE WRIGHT

Una manera de evaluar la estructura genética es por medio de los estadísticos F propuestos por Wright, que son una aproximación a la repartición de la variabilidad genética en una población subdividida, en donde se definen tres coeficientes:

- Índice de Fijación poblacional (F_{ST}): Es una medida de diferenciación genética y calcula la reducción de la heterocigosidad originada por la subdivisión de la población. El valor de F_{ST} puede variar entre 0 (poblaciones sin diferenciación) y 1 (poblaciones completamente diferenciadas) y se puede expresar en términos de la heterocigosidad.

$$F_{ST} = 1 - (H_S/H_T)$$

En donde H_S es la heterocigosidad promedio esperada a nivel subpoblacional y H_T es la heterocigosidad esperada a nivel total.

- Coeficiente de endogamia (F_{IS}): Mide la reducción de la heterocigosidad de los individuos debido al apareamiento no aleatorio dentro de la subpoblación a la que pertenecen.

$$F_{IS} = 1 - (H_I/H_S)$$

En donde H_I es la heterocigosidad promedio observada a nivel subpoblacional.

- Coeficiente de endogamia total (F_{IT}): Es una medida de la reducción de heterocigosidad de los individuos con respecto a la población total. Ambos coeficientes de endogamia (F_{IS} y F_{IT}) pueden tener valor de -1 a 1, donde valores positivos indican una deficiencia de heterocigotos y negativos un exceso de homocigotos (Hedrick, 2005; Piñero *et al.*, 2008).

$$F_{IT} = 1 - (H_I/H_T)$$

2.4.5. DISTANCIAS GENÉTICAS

Es el grado de diferenciación que existe entre las poblaciones de una misma especie o entre especies y se basa en diferencias de las frecuencias alélicas existentes dentro y entre poblaciones. Las distancias genéticas se pueden cuantificar mediante diferentes índices de distancias (Aranguren-Méndez *et al.*, 2005). El índice para medir distancias genéticas que se utiliza con mayor frecuencia es el de Nei, que analiza la cantidad de variación genética entre pares de poblaciones y varía de 0 a 1 (0=iguales y 1=diferentes) (Piñero *et al.*, 2008).

Las distancias genéticas de Nei, ha sido formuladas a partir de los siguientes supuestos: modelo de mutación de alelos infinitos, tasa de mutación constante e

igual para todos los loci; poblaciones con tamaños efectivos iguales y constantes a través de las generaciones; y las poblaciones se encuentran en un equilibrio de mutación-deriva (Demarchi, 2009). Además por ser un índice utilizado ampliamente en diferentes grupos de organismos, permite comparaciones a distintos niveles (entre poblaciones, entre variedades o subespecies y entre especies) (Piñero *et al.*, 2008).

2.4.6. FLUJO GENÉTICO

El flujo genético se refiere a la transferencia de genes de una población a otra, siendo un componente principal de la estructura poblacional, ya que sus patrones y niveles determinan hasta qué grado cada población de una especie es una unidad evolutiva independiente. Si existe una gran cantidad de flujo génico entre poblaciones locales, todas las poblaciones evolucionan juntas; pero si hay poco flujo cada población evoluciona en forma casi independiente (Slatkin, 1994; Piñero *et al.*, 2008).

Los métodos indirectos para la estimación del flujo génico, se basan en la observación de la distribución de los alelos en las poblaciones, que permite realizar inferencias de los niveles o patrones del flujo genético (Aguirre-Planter, 2007).

Uno de los métodos indirectos más utilizados para la estimación del flujo genético se basa en la F_{ST} , que asume el modelo de islas infinitas (*infinite islands model*), este modelo considera un número infinito de poblaciones de igual tamaño que intercambian migrantes entre cualquiera de las poblaciones con igual probabilidad y a una tasa constante. Este método se puede caracterizar con sólo dos parámetros: tamaño poblacional (N) y tasa de migración (m), donde la importancia de la deriva génica es proporcional a $1/N$, mientras que la importancia del flujo génico es proporcional a m (Aguirre-Planter, 2007).

$$Nm = \frac{1 - F_{ST}}{4F_{ST}}$$

2.5. DIVERSIDAD GENÉTICA

La diversidad genética es la variedad de alelos y genotipos presentes en una población, especie o grupo de especies, esta variabilidad genética es necesaria para que las poblaciones se adapten a los cambios ambientales (Frankham *et al.*, 2005). Al utilizar marcadores moleculares, esta variación puede describirse calculando la proporción de loci polimórficos, la diversidad alélica, la heterocigosidad esperada y la heterocigosidad observada, entre otros (Hedrick, 2005).

2.5.1. ALELOS EFECTIVOS (N_e)

Los alelos efectivos son el número de alelos que se mantiene en la población. Esta medida es usada por ser menos sensible al tamaño de muestra y por alelos poco frecuentes (Spide *et al.*, 1984).

$$N_e = \frac{1}{p_i^2}$$

Donde, p_i es la frecuencia del alelo i

2.5.2. FRECUENCIAS ALÉLICAS

Las frecuencias alélicas s el resultado de dividir el número de alelos iguales en una población por el número total de alelos y el cálculo se hace por recuento directo de los alelos presentes (Spide *et al.*, 1984).

2.5.3. RIQUEZA ALÉLICA

La riqueza alélica es el número de alelos por locus y se expresa como:

$$N_a = \sum \frac{\text{núm.alelos por locus}}{\text{núm.loci muestreado}}$$

(Spide *et al.*, 1984).

2.5.4. HETEROCIGOSIS OBSERVADA (H_o)

La heterocigosis observada es la proporción de heterocigotos para un locus dado, calculada a partir de los genotipos observados en una muestra poblacional y es utilizada como una medida para comprobar en qué grado la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (Spide *et al.*, 1984).

2.5.5. HETEROCIGOSIS ESPERADA (H_E)

Proporción de organismos heterocigotos presente en una población suponiendo el modelo de Hardy-Weinberg y generalmente se reporta como medida de variabilidad genética, ya que es menos sensible al tamaño de muestra que la observada. Su cálculo implica la obtención de las frecuencias genotípicas a partir de las frecuencias alélicas y se calcula con base en:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^{i=n} p_i^2$$

Siendo p_i la frecuencia del alelo i

Este estadístico es equivalente a la heterocigosis observada, cuando las poblaciones se encuentran en completo equilibrio de Hardy-Weinberg (Spide *et al.*, 1984).

2.6. ESPECIE DE ESTUDIO

2.6.1. HISTORIA TAXONÓMICA

El género *Natalus* ha tenido una compleja historia taxonómica, con una incertidumbre en el número de especies. En México el género *Natalus* ha tenido varias revisiones: en 1902 Miller describió a *Natalus mexicanus* con base a especímenes colectados en Baja California Sur; más tarde Dalquest y Hall en 1949 describieron una subespecie para el este de México *N. mexicanus saturatus*, restringiendo a *N. mexicanus* a Baja California y al oeste de México desde Sonora hasta Jalisco. Posteriormente las dos subespecies alopátricas fueron renombradas como *N. stramineus mexicanus* y *N. stramineus saturatus* (Goodwin, 1959).

Más tarde Tejedor en 2005 al examinar una serie de ejemplares considerados como *N. stramineus*, describe una nueva especie *N. lanatus*, simpátrica de *N. stramineus* con una distribución geográfica que se extiende desde México hasta Panamá, diferenciados por la coloración del pelaje ventral y dorsal, cerdas que sobresalen en la base de cada garra y presencia de pliegues en el borde lateral de las orejas. Después Tejedor en 2006 al realizar un análisis comparativo de caracteres craneales en una serie de ejemplares de *N. stramineus* recolectados desde México hasta Sudamérica, reasigna a las poblaciones de México y Centroamérica a *N. mexicanus* (Torres, 2013). Posteriormente López-Wilchis y colaboradores en 2012 llevaron a cabo un análisis morfológico y genético con ejemplares de *N. mexicanus* y *N. lanatus*, concluyeron la presencia de una sola especie de *Natalus* en México, que de acuerdo a la última revisión debe ser referida como *Natalus mexicanus*.

2.6.2. DESCRIPCIÓN

Natalus mexicanus Miller 1902, es un murciélago insectívoro neotropical, que se caracterizan por presentar orejas grandes en forma de embudo, patas largas y una cola más larga que la longitud de la cabeza y el cuerpo, que llega al margen de un extenso uropatagio, los machos presentan una estructura glandular que se conoce como órgano natálico, que se extiende desde la base posterior del rostro hasta la

corona de la cabeza (Figura 1) (Dalquest, 1950; Tejedor *et al.*, 2005; Tejedor *et al.*, 2011).

Este murciélago es una especie gregaria que puede llegar a formar colonias constituidas por cientos o varios miles de individuos, en lugares como cuevas, minas o túneles (Torres-Flores, 2013). Se distribuye desde el Norte de México incluyendo Baja California Sur hasta Panamá (Figura 2); en México abarca franjas que se extienden por las costas y zonas bajas de la vertiente del Pacífico, desde Sonora y Baja California Sur hasta Chiapas y también por la vertiente del Golfo de México, desde Nuevo León hasta la península de Yucatán, incluyendo las islas María Magdalena y Cozumel (Tejedor, 2011).

Natalus mexicanus ha sido encontrado desde el nivel del mar hasta los 2900 msnm, aunque generalmente se encuentran a alturas menores a los 400 msnm (Torres-Flores, 2013), abarcando varios tipos de vegetación y climas que van desde zonas semidesérticas con matorral xerófito y climas cálidos-secos, hasta zonas templadas con bosques de pino-encino y clima templado-subhúmedo, aunque se encuentra típicamente en refugios ubicados en selva baja o mediana caducifolia y con clima cálido-subhúmedo o subcálido-subhúmedo (Torres-Flores y López-Wilchis, 2010).

N. mexicanus está considerada en la categoría LC o preocupación menor por la International Union for Conservation of Nature (IUCN) (Velazco y Pineda, 2008) y no se encuentra en ninguna categoría de riesgo en la NOM-059-SEMARNAT-2010, ni en Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre (CITES) (CMCM, 2011). Aunque en México se desconoce el estado actual de sus poblaciones y es probable que en algunos de sus refugios hayan disminuido o desaparecido sus poblaciones, debido a disturbio antropogénico (Torres-Flores y López-Wilchis, 2010).



Figura 1. Ejemplar de *Natalus mexicanus* (Foto: tomada por Guevara-Chumacero Luis Manuel)

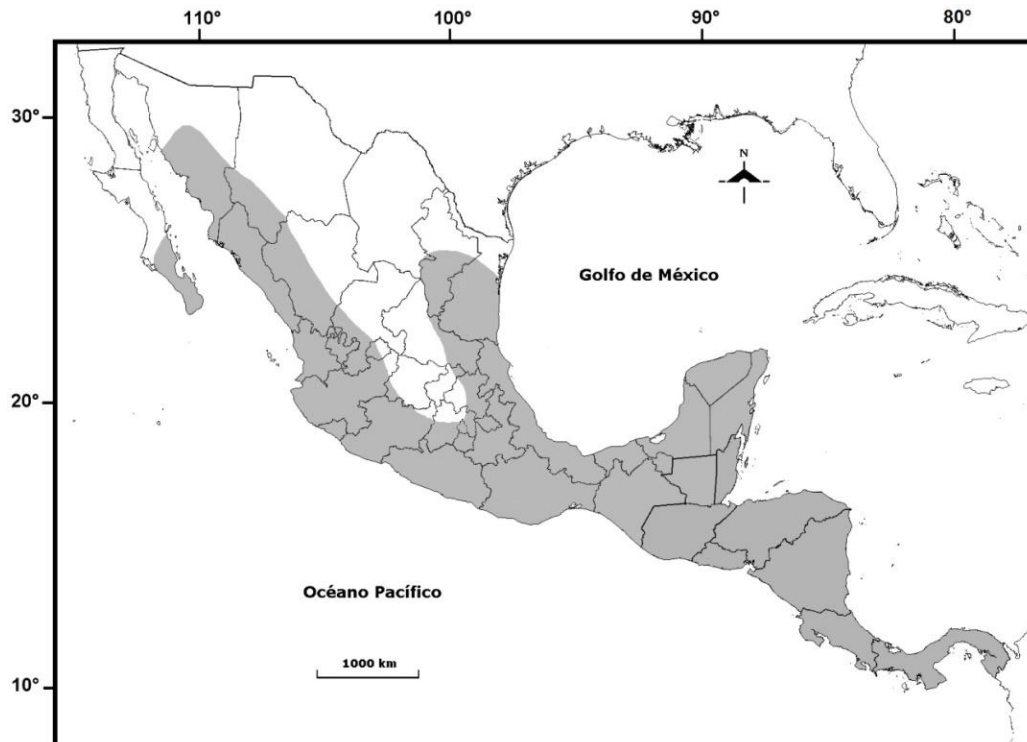


Figura 2. Distribución geográfica de *Natalus mexicanus*. Modificado de Torres-Flores (2013).

2.6.3. ANTECEDENTES GENÉTICOS

Entre los estudios genéticos que se han realizado para el género *Natalus* destacan los que se refieren a la variabilidad genética en distintas partes de su distribución geográfica y aunque fueron realizados con otros tipos de marcadores moleculares, permiten identificar ciertos patrones.

Arroyo-Cabrales y colaboradores en 1997 realizaron un análisis de variación genética de *Natalus stramineus* (sinonimia de *Natalus mexicanus*) en México, Belice y República Dominicana, con aloenzimas, identificando una diferenciación entre el norte y sur de México, que es atribuida a la amplia diversidad de condiciones ecológicas y ambientales en las que se encuentra la especie.

Dávalos en 2005 llevó a cabo un análisis filogenético de la familia Natalidae, con secuencias nucleares (*Rag2*) y mitocondriales (citocromo b), además de tomar en cuenta algunos caracteres morfológicos, concluyendo que la familia incluye al menos 8 especies y que los natalidos existentes parecen tener un origen en el Norte de las Antillas. Señalando que es necesario un análisis geográfico e histórico de todos los linajes presentes en México y Centroamérica para resolver la sistemática del género, lo que facilitara su estudio ecológico y la conservación de estas especies.

López-Wilchis y colaboradores en 2012, llevaron a cabo un análisis morfológico y molecular utilizando citocromo b, para aclarar la situación taxonómica del género *Natalus*, analizando la presencia de dos especies simpátricas en México *N. mexicanus* y *N. lanatus*. Los resultados demostraron que el género *Natalus* en México presenta una sola especie que debe ser referida como *N. mexicanus* de acuerdo con la última revisión del género. De acuerdo a los análisis genéticos, se observaron tres clados, un primer clado que corresponde a los estados de Chiapas, Veracruz y Tamaulipas, un segundo clado en la vertiente del Pacífico (Baja California Sur, Guerrero, Colima y Jalisco) y un último clado en el valle central de Oaxaca.

3. JUSTIFICACIÓN

El análisis genético con microsatélites nucleares permitirá conocer la estructura y la diversidad genética reciente de *Natalus mexicanus* en México y saber si existe una relación con la variación genética observada por Arroyo-Cabrales *et al.*, (1997) que utilizaron aloenzimas o los linajes reportados por López-Wilchis *et al.*, (2012) realizado con marcadores mitocondriales.

Los estudios citados anteriormente han proporcionado evidencias importantes sobre la estructuración genética de la especie, pero no son capaces de elucidar la diversidad y estructura genética actual, así como la capacidad de dispersión y de migración de este murciélago, por lo que es de vital importancia analizar datos de microsatélites para conocer estos aspectos.

4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Existe una estructuración entre las diferentes localidades estudiadas de *Natalus mexicanus* en México?

¿Cuál es el nivel de diversidad genética de *Natalus mexicanus* en las diferentes localidades de México?

5. HIPÓTESIS

Debido a la presencia de características morfológicas (índice de aspecto promedio y baja carga alar) que indican que *Natalus mexicanus* tiene una limitada capacidad de dispersión y migración y por la presencia de barreras orográficas en México (Sierra Madre Occidental, Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur, Istmo de Tehuantepec, entre otros), se espera que la especie de estudio presente una alta estructuración genética a lo largo de su distribución.

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

- Analizar la estructura y diversidad genética de *Natalus mexicanus* en México.

6.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la estructura genética de *Natalus mexicanus* en México.
- Evaluar el flujo genético de *Natalus mexicanus* en México.
- Conocer la diversidad genética reciente dentro y entre las localidades de *Natalus mexicanus* en el país.

7. ÁREA DE ESTUDIO

Para analizar la variabilidad genética de *Natalus mexicanus*, el estudio se llevó a cabo en siete localidades que son representativas de la distribución de *N. mexicanus* en México: Mina Polar (**MP**), Bolonchén (**B**), Los Laguitos (**L**), Juxtlahuaca (**J**), Peña Blanca (**PB**), San Sebastián (**SS**) y Taninul (**T**) (Cuadro 1 y Figura 3).

Cuadro 1. Localidades de colecta. Tamaño de muestra (N); Clima: Seco muy cálido (BS₀h), Cálido subhúmedo (Aw), Templado subhúmedo (Cw), Carta Climatológica a escala 1:1,000,000 (INEGI, 2009); Vegetación circundante Matorral Sarcocaula (MSC), Selva Baja Caducifolia (SBC), Bosque de Pino-Encino (BPQ), Carta de Vegetación y Uso del Suelo a escala 1:1,000,000 (INEGI, 2009).

Localidad	Estado	Coordenadas	Altitud (msnm)	Clima y Vegetación	N	Fecha de colecta
Mina Polar (Mina)	Baja California Sur	23°20'43.8" N 110°07'33.6" O	140	BS ₀ h MSC	16	28/03/2008
Bolonchén (Cueva)	Campeche	19°59'25.44" N 89°45'50.22" O	117	Aw SBC	16	01/03/2005 30/07/2013
Los Laguitos (Cueva)	Chiapas	16°47'31" N 93°08'37" O	730	Aw SBC	23	11/11/2007 11/05/2013
Juxtlahuaca (Cueva)	Guerrero	17°26'21.36" N 99°09'34.26" O	900	Aw SBC	16	02/08/2007
Peña Blanca (Cueva)	México	19°07'37.8" N 100°06'3.6" O	2305	Cw BPQ	16	19/04/2012
San Sebastián (Gruta)	Oaxaca	16°37'49.92" N 96°58'8.82" O	1700	Cw BPQ	16	29/03/2009
Taninul (Cueva)	San Luis Potosí	21°56'6.6" N 98°53'9.6" O	51	Aw SBC	16	09/03/2005

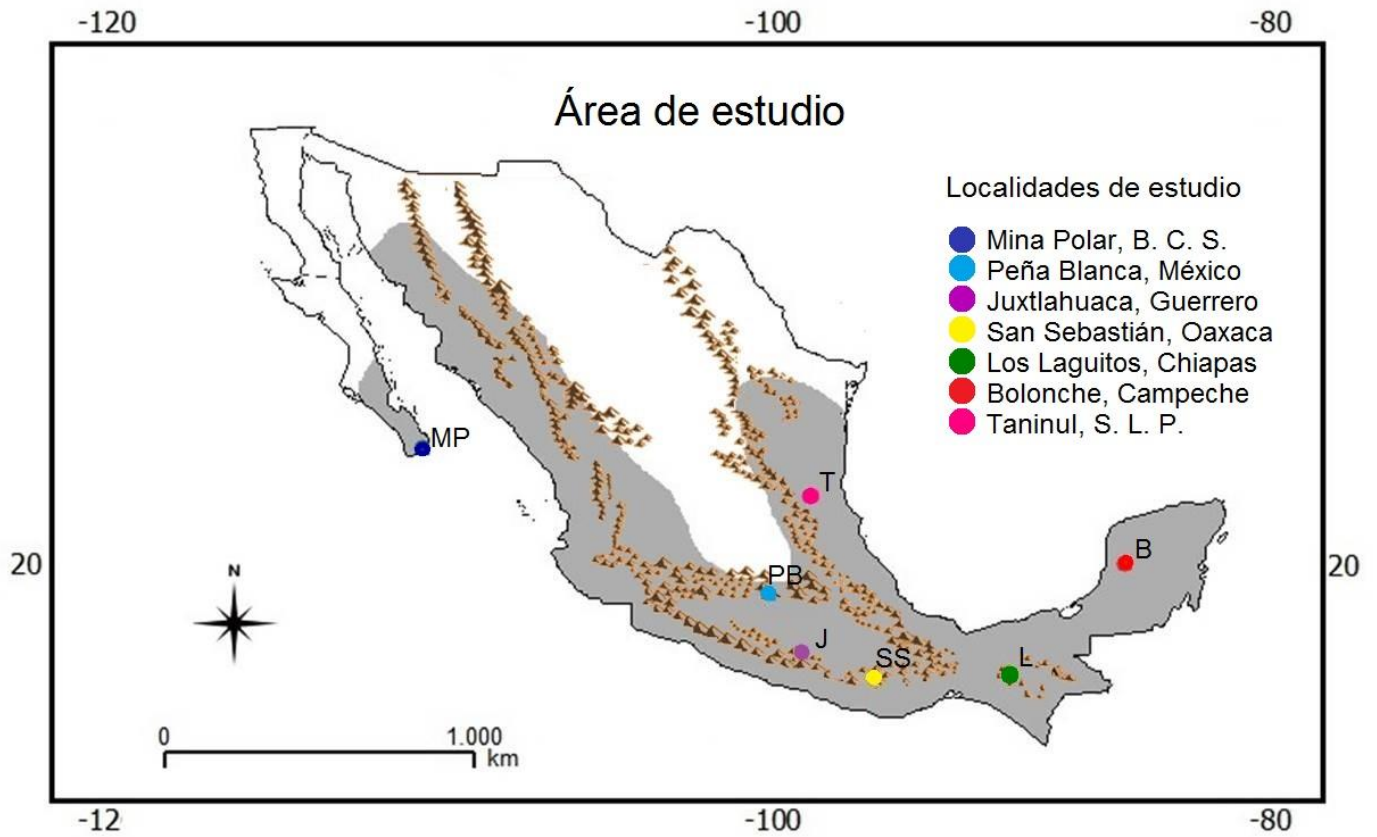


Figura 3. Ubicación de las siete localidades donde se recolectaron muestras de *Natalus mexicanus*, en gris se indica la distribución geográfica de *N. mexicanus* en México (modificado de Tejedor, 2011).

8. MATERIAL Y MÉTODO

8.1. TRABAJO DE CAMPO

El estudio se realizó con 119 muestras de *N. mexicanus*, recolectadas en 7 localidades (Cuadro 1). La colecta se llevó a cabo por medio de trampas de arpas y redes de niebla, colocadas en la entrada de cada mina, cueva o gruta de las localidades muestreadas y monitoreadas de manera continua durante un periodo aproximado de 2 a 3 horas. La identificación de los murciélagos se efectuó con las claves de Medellín y colaboradores (2008).

A los organismos identificados como *N. mexicanus* se les tomaron medidas morfométricas y se registró el sexo, posteriormente a una parte de los organismos capturados se les realizó una biopsia de membrana alar de 3 mm de diámetro con un sacabocado (biopsy-punch), las cuales se depositaron en tubos Eppendorf con etanol al 70%, después estos murciélagos fueron liberados; el resto de los organismos, fueron sacrificados mediante dislocación cervical, para después realizar una taxidermia y tomar una muestra de músculo, que fue conservado en etanol al 70% en tubos Eppendorf.

Las biopsias fueron transportadas al Laboratorio de Biología y Ecología de Mamíferos del Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, mientras que a los organismos que se les practicó taxidermia fueron depositados en la Colección Mamíferos de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Los procedimientos utilizados para captura y manejo de *N. mexicanus* siguieron los lineamientos establecidos por la American Society of Mammalogists (Sikes *et al.*, 2011) y de acuerdo a los lineamientos de ética de la Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa (Anónimo, 2010).

8.2. TRABAJO DE LABORATORIO

8.2.1. EXTRACCIÓN DE ADN TOTAL

La extracción de ADN total se realizó a partir de 20µg de músculo o membrana alar de cada individuo, siguiendo el protocolo kit Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega). Previamente a la extracción, se realizaron tres lavados de la muestra con agua destilada para eliminar el exceso de etanol en el que fueron conservados.

El ADN total se cuantificó en un espectrofotómetro NanoDrop ND-2000, mientras que la integridad del ADN se verificó por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 1 % teñido con 0.3 µl de GelRed™, corrida a 90 V durante 45 minutos, utilizando una ladder de 100bp DNA G210A (Promega) y se visualizó en un Fotodocumentador Gel Logic 2200 PRO Gel Imaging System (CARESTREAM).

8.2.2. REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Se utilizaron 10 primers de microsatélites desarrollados para la especie (Cuadro 2) (Méndez-Rodríguez, enviado). Para el diseño de primers, se utilizó el método descrito por Schuelke (2000), basado en el uso de tres primers, el Forward, el Reverse y un primer inespecífico marcado con un fluoróforo. Los extremos 5' de los Forward de cada par de primers, se modifica por una secuencia M13 (5' - TGAAAACGACGGCCAGT - 3') para permitir el uso del tercer primer complementaria a la secuencia M13 en el extremo 5' y con un marca fluorescente.

La amplificación de los microsatélites se llevó a cabo por la Reacción en Cadena de la Polimerasa, empleando un termociclador MultiGene™. Para los primers Nm1, Nm2, Nm3, Nm7, Nm8, Nm9 y Nm10 el ADN se amplificó en un volumen de reacción de 12.5µl que contiene: 1 µl de ADN, 6.25 µl de PCR Master Mix (Promega), 0.3 µl de MgCl₂, 0.25 µl de primer Forward a 10µM, 0.25 µl del primer Reverse a 10µM, 3.7 de H₂O y 0.75 de primer fluorescente (Invitrogen™) PET, NED, FAM o VIC a 10µM, mientras que para los primers Nm4, Nm5 y Nm6, el ADN se amplificó en un volumen de reacción de 12.5µl que contiene: 1 µl de ADN,

6.25 µl de PCR Master Mix, 0.3 µl de MgCl₂, 0.19 µl de primer Forward a 10µM, 0.75 µl del primer Reverse a 10µM, 3.26 de H₂O y 0.75 de primer fluorescente FAM, PET o VIC a 10µM. Las condiciones de amplificación del termociclador variaron de acuerdo a la temperatura de alineamiento de los primers y a la optimización de la PCR (Cuadro 3).

Cuadro 2. Primers de microsatélites nucleares diseñados para *Natalus mexicanus* con la secuencia M13 incorporada y fluoróforo con que se marcó el primer (F).

Locus	Primer 5´-3´	F
Nm1	F TGAAAACGACGGCCAGTCGTGAGCCGACACTCTAACC R ATGATGCCCACTCTGGGG	PET
Nm2	F GTAAAACGACGGCCAGTTAATCTTCACCCGAGGACACC R AACACACATGGGAGGCAACC	NED
Nm3	F TGAAAACGACGGCCAGTCAACACACAACAGCGTACACC R TTGAGTTTGCTTATGGTCCCC	FAM
Nm4	F GTAAAACGACGGCCAGTGCTGGCATAGACAGAAGAATGC R AATAACAAGTGTGTGTGAGAGCG	FAM
Nm5	F TGAAAACGACGGCCAGTATTTTGCTCAGAGTAATGCCC R AAGTGCTCATCAGTGGATGG	PET
Nm6	F TGAAAACGACGGCCAGTTCGGAAAAGGTAGGGAAGGG R GAGCGATGCAAATGCTAAAGG	VIC
Nm7	F TGAAAACGACGGCCAGTGGCAGTGAGATAGACGGATGG R GGAAGCAAAGCCCTTCTTAGC	VIC
Nm8	F GTAAAACGACGGCCAGTCAATGCTAGATATTGCGGAGAGC R TCCTGCATATAAGTCCCTGCG	PET
Nm9	F GTAAAACGACGGCCAGTGCTGTGAGTAGCAAGATGGTGG R CTGTATAGTTCCCCATTAGCAAGC	VIC
Nm10	F TGAAAACGACGGCCAGTGCCCCAAACAACAACACTCTACG R TCAGAAACCAACCATCAGAGG	FAM

Cuadro 3. Condiciones de amplificación del termociclador.

Primer	Condiciones de termociclador
Nm1 y Nm9	Un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 2 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 30s, 60°C a 30s, 68°C a 30s y un ciclo de extensión final a 68°C por 10 min.
Nm2, Nm3 y Nm10	Un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 2 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 30s, 58°C a 30s, 68°C a 30s y un ciclo de extensión final a 68°C por 10 min.
Nm4	Un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 5 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 30s, 58°C a 45s, 72°C a 45s, posteriormente 8 ciclos a 94°C por 30s, 53°C a 45s, 72°C a 45s y un ciclo de extensión final a 72°C por 10 min.
Nm5	Un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 5 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 30s, 54°C a 45s, 72°C a 45s, posteriormente 8 ciclos a 94°C por 30s, 53°C a 45s, 72°C a 45s y un ciclo de extensión final a 72°C por 10 min.
Nm6	Un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 5 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 30s, 56°C a 45s, 72°C a 45s, posteriormente 8 ciclos a 94°C por 30s, 53°C a 45s, 72°C a 45s y un ciclo de extensión final a 72°C por 10 min.
Nm7	Un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 2 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 30s, 62°C a 30s, 68°C a 30s y un ciclo de extensión final a 68°C por 10 min.
Nm8	Un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C por 2 min, seguido de 30 ciclos a 94°C por 30s, 60°C a 30s, 68°C a 30s y un ciclo de extensión final a 68°C por 30 min.

Los productos amplificados, se verificaron mediante una electroforesis en gel de agarosa al 1% teñidos con 0.3 µl de GelRed™, corrida a 95 V durante 1 hora y utilizando una ladder de 100bp DNA G210A (Promega), posteriormente se visualizó en un Fotodocumentador Gel Logic 2200 PRO Gel Imaging System (CARESTREAM).

8.2.3. DETERMINACIÓN Y LECTURA DE MICROSATÉLITES

Para conocer los distintos alelos de los microsatélites se llevó a cabo una electroforesis capilar en un secuenciador (ABI PRISM Genetic Analyzer 3130xl), en el Laboratorio Divisional de Biología Molecular de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud (CBS) de la UAM Iztapalapa; para ello se utilizaron de 2 a 4 μ l de producto de PCR (la cantidad del producto de PCR dependió de la intensidad de la banda en la electroforesis en gel de agarosa), 0.3 μ l de LIZ (GeneScan™ 500® LIZ Size Standar) y 9.55 μ l de formamida, para después desnaturalizar a 94°C durante 5 minutos en un termociclador BioRad (MyCycler, Thermal Cycler™).

Para la lectura de los microsatélites, se registró el tamaño de alelos en pares de bases, incluyendo la longitud de la M13 utilizando el programa GeneMarker v 2.4.2.

8.3. ANÁLISIS DE DATOS

8.3.1. EVALUACIÓN DE LOS LOCI

Para saber si estos loci son adecuados para este estudio, se realizaron las siguientes pruebas:

EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG

Se estimó la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) para cada locus y localidad, mediante la prueba exacta de Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), con 10,000 desmemorizaciones, 20 batches (tratamientos por localidad) y 5,000 iteraciones por batch con el programa GENEPOP v. 4.0 (Raymond y Rousset, 1995), el valor de significancia de esta prueba fue corregido con el ajuste secuencial de Bonferroni con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$ (Rice, 1989). Mientras que el déficit o exceso de heterocigotos para cada locus y localidad, fue

evaluado a partir del coeficiente de endogamia F_{IS} de Weir y Cockerman (W&C), con el programa y GenAlEx v. 6.3 (Peakall y Smouse, 2006).

ALELOS NULOS

Debido a que la presencia de alelos nulos puede provocar una deficiencia de heterocigotos, por una falla en la amplificación de los microsatélites, se verificó la presencia y frecuencia de alelos nulos por locus y por localidad, mediante el software MICROCHECKER v. 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004), que utiliza el método de Brookfield (1996).

Para conocer si la presencia de alelos nulos modifican significativamente los resultados de los análisis, se calcularon los valores de F_{ST} y distancias genéticas con y sin corrección ENA (estimación de alelos nulos), con el programa FREENA (Chapuis y Estoup, 2007) y aplicando una t-Student, para así establecer si era necesario excluir algún locus del estudio.

DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO

Para conocer si los loci se están o no transmitiendo independientemente, se efectuó un análisis del desequilibrio de ligamiento, determinado entre pares de loci, mediante una prueba exacta de Fisher, utilizando el programa GENEPOP v. 4.0 (Raymond y Rousset, 1995) que utiliza el algoritmo de cadenas de Markov y fue ajustado a 10,000 desmemorizaciones, 100 batches y 5,000 iteraciones por batch y aplicando la corrección de Bonferroni secuencial con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$ (Rice, 1989).

8.3.2. ESTRUCTURA GENÉTICA

Para determinar el número de grupos genéticos se utilizó el programa STRUCTURE 2.2, que calcula la probabilidad de que un genotipo se origine en cada población, a partir de las frecuencias alélicas, permitiendo identificar

subpoblaciones e identificar individuos entremezclados, es decir que puedan provenir de más de una subpoblación y se asume que estos individuos son descendientes de migrantes (Pritchard *et al.* 2000). Las condiciones de corrida fueron 100,000 iteraciones y 10,000 batches, probando desde $K=2$ hasta $K=7$ con 20 corridas por K , el valor de K real fue determinado usando la prueba estadística propuesta por Evanno *et al.* (2005). Para corroborar el número de grupos genéticos y las localidades que las conforman se realizó un análisis factorial de correspondencias con el programa Genetix v. 4.5.2, esta prueba grafica a los individuos de acuerdo a sus estados alélicos (Belkhir *et al.*, 2004).

Para determinar la fuente de variación se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), calculado por medio de la F_{ST} y el equivalente R_{ST} , incluyendo a todas las localidades en un sólo grupo lo que permitió obtener valores de partición de la diversidad y los estadísticos de fijación de Wright, también se realizó otro análisis de varianza molecular entre los grupos genéticos con el programa Arlequin v. 3.0 (Excoffier *et al.* 2005).

Se realizaron los cálculos utilizando la R_{ST} y la F_{ST} debido a que la R_{ST} es más adecuada para estimar la estructuración cuando se utilizan microsatélites, ya que se considera un modelo de mutación de SMM y el tamaño de los alelos al hacer el cálculo de la varianza y no el valor de la H_e como en el caso de la F_{ST} (Hedrick, 2005; Aguirre-Planter, 2007).

DISTANCIA GENÉTICA

Para conocer el grado de diferenciación genética entre las localidades y entre los grupos genéticos, se calcularon las distancias genéticas de Nei con el programa POPULATIONS v 1.2.32 (Langella, 1999) y con base a estas distancias genéticas de Nei se elaboró un dendograma con el programa TFPGA v. 1.3 que utiliza el análisis de UPGMA para agrupar a las localidades (Miller, 1997)

FLUJO GÉNICO

Para conocer si existe un intercambio genético entre los individuos de las diferentes localidades, se estimó el número de migrantes efectivos (N_m) por generación entre las localidades y entre grupos, utilizando el programa Arlequin v. 3.0, que se calcularon con base a la F_{ST} y R_{ST} (Excoffier *et al.* 2005).

Se realizaron los cálculos utilizando la R_{ST} y la F_{ST} debido a que los microsatélites presentan una tasa de mutación muy alta, lo que puede sobreestimar el número de migrantes N_m calculada por la F_{ST} , mientras que el índice R_{ST} es relativamente insensible a las tasas de mutación (Hedrick, 2005; Aguirre-Planter, 2007).

8.3.3. DIVERSIDAD GENÉTICA

La diversidad genética de las localidades y grupos, se evaluó mediante el número de alelos por locus (N_a), alelos exclusivos (N_p), alelos efectivos (N_e), frecuencia alélica (P_i), riqueza alélica (A_r), heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada (H_E) que es la medida de variabilidad genética que generalmente se reporta, ya que es menos sensible al tamaño de la muestra que la heterocigosis observada y también se calculó la heterocigosis esperada de Nei (H_{NEI}) la cual considera un factor de corrección cuando el tamaño de muestra es pequeño y por la posible presencia de alelos nulos, estos estimadores de diversidad genética se realizaron con el programa GenAIEx v. 6.3 (Peakall y Smouse, 2006).

9. RESULTADOS

9.1. EVALUACIÓN DE LOS LOCI

EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG

Al realizar el análisis de equilibrio de Hardy-Weinberg, se observaron cinco loci en equilibrio en las localidades de **MP** y **SS**, ocho loci en las localidades de **B** y **J**, seis en las localidades de **L** y **T** y nueve en la localidad de **PB**, el resto de los loci presentan una desviación significativa de Hardy-Weinberg. El promedio del coeficiente de endogamia (F_{IS}) de W&C para cada localidad fue variable y las localidades que presentaron valores más altos fueron **MP** (0.444) y **PB** (0.410) y la localidad con el valor más bajo fue **B** (0.115) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg por locus. Locus en desequilibrio de Hardy-Weinberg (*); Probabilidad de desviación del equilibrio (P); Índice de F_{IS} (W&C).

Localidad		Locus									
		Nm1	Nm2	Nm3	Nm4	Nm5	Nm6	Nm7	Nm8	Nm9	Nm10
MP	P	0.057	0.0002*	0.930	0*	0.742	0*	0.200	0.602	0*	0*
	W&C	0.221	1	-0.216	0.641	-0.079	0.847	0.145	-0.114	1	1
B	P	0.025	1	0.122	0.103	0.078	0.992	0.925	0*	0.693	0*
	W&C	0.080	-0.034	0.147	0.032	0.049	-0.257	-0.092	0.505	-0.019	0.742
L	P	0.027	0.022	0.384	0.005*	0.562	0.818	0*	0*	0.0008*	0.030
	W&C	0.264	0.622	-0.008	0.216	0.027	-0.168	0.255	0.487	0.224	0.321
J	P	0.836	0.003*	0.085	0.002*	0.177	0.128	0.048	0.015	0.017	0.055
	W&C	-0.049	0.782	0.387	0.275	0.182	0.054	0.197	0.174	0.316	0.431
PB	P	0.065	0.083	0.106	0.105	0.116	0.025	0.781	0.981	0.005	0.0002*
	W&C	0.208	0.282	0.125	0.076	0.225	0.439	-0.025	-0.144	0.315	1
SS	P	0.178	0.0001*	0.002*	0.001*	0.352	0.001*	0.224	0.028	0.448	0*
	W&C	0.128	0.715	0.456	0.703	0.166	0.651	0.104	0.354	0.003	0.820
T	P	0.082	0.032	0.235	0.758	0.166	0.566	0.006*	0*	0.0008*	0.0007*
	W&C	0.144	1	0.084	-0.068	0.086	-0.021	0.184	0.469	0.347	0.759

ALELOS NULOS

Se observó la presencia de alelos nulos, en todas las localidades muestreadas y en 9 de los 10 loci amplificados (Cuadro 5). La localidad que presentó un mayor número de loci con alelos nulos fue **L** con 7 locus, seguida de **MP** y **SS** con 5 loci y la localidad con menor número de loci con alelos nulos es **B** con 2 loci y el promedio de alelos nulos por localidad fue de 4.142.

Los locus que presentaron mayor número de localidades con alelos nulos fue el locus Nm10 con 6 localidades, seguido del Nm9 con 5 localidades. Sin embargo, debido a que la prueba de t-Student los valores de F_{ST} con ENA (0.123745) y sin ENA (0.146592) (Cuadro 6) y las distancias genéticas con ENA y sin ENA (Cuadro 7) no presentaron diferencias significativas, no fue necesario excluir de este estudio los loci que presentaron alelos nulos (Anexo 1).

Cuadro 5. Presencia de alelos nulos por locus y localidad. Ausencia de alelos nulos (0); Presencia de alelos nulos (1).

Localidad	Locus									
	Nm1	Nm2	Nm3	Nm4	Nm5	Nm6	Nm7	Nm8	Nm9	Nm10
MP	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1
B	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
L	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1
J	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0
PB	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
SS	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1
T	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1

Cuadro 6. Valores de F_{ST} por locus con y sin corrección ENA.

Locus	Con alelos nulos	Sin alelos nulos
Nm1	0.060895	0.054661
Nm2	0.010538	0.023946
Nm3	0.164370	0.151178
Nm4	0.210753	0.178803
Nm5	0.166362	0.160258
Nm6	0.166003	0.142411
Nm7	0.042268	0.042132
Nm8	0.147229	0.142085
Nm9	0.111092	0.078687
Nm10	0.320032	0.231538

Cuadro 7. Distancias genéticas entre pares de poblaciones con y sin corrección ENA.

Poblaciones comparadas	Con alelos nulos	Sin alelos nulos
MP-B	0.600483	0.582253
MP-L	0.558601	0.567080
MP-J	0.579909	0.595549
MP-PB	0.706637	0.746731
MP-SS	0.665680	0.700657
MP-T	0.614093	0.634166
B-L	0.360682	0.634166
B-J	0.478376	0.465273
B-PB	0.611197	0.617168
B-SS	0.558964	0.568590
B-T	0.444173	0.441317
L-J	0.419865	0.423059
L-PB	0.640993	0.655023

L-SS	0.599250	0.616554
L-T	0.373200	0.387944
J-PB	0.645649	0.670481
J-SS	0.591022	0.618794
J-T	0.414538	0.419073
PB-SS	0.378037	0.377614
PB-T	0.640473	0.656323
SS-T	0.616497	0.633243

DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO

La prueba de desequilibrio de ligamiento indicó que las 45 comparaciones entre los diez loci, no presentaron desequilibrio de ligamiento, por lo que todos locus presentan una independencia estadística.

9.2. ESTRUCTURA GENÉTICA

GRUPOS GENÉTICOS

El resultado obtenido del análisis de asignación bayesiano realizado con el programa STRUCTURE mostró que las localidades estudiadas se dividen en tres grupos, el grupo I (rojo) con la localidad de **MP**, el grupo II (verde) con las localidades de **B**, **L**, **T** y **J** y el grupo III (azul) para las localidades de **PB** y **SS** (Figura 4 y 5), resultado que fue confirmado con la prueba de Evanno (Figura 6).

Cada uno de los grupos presentó localidades que comparten el mismo tipo de clima y vegetación, de acuerdo a estas características al grupo I se denominó como **Matorral Sarcocaulé**, al grupo II como **Selva Baja Caducifolia** y al grupo III como **Bosque de Pino-Encino**.

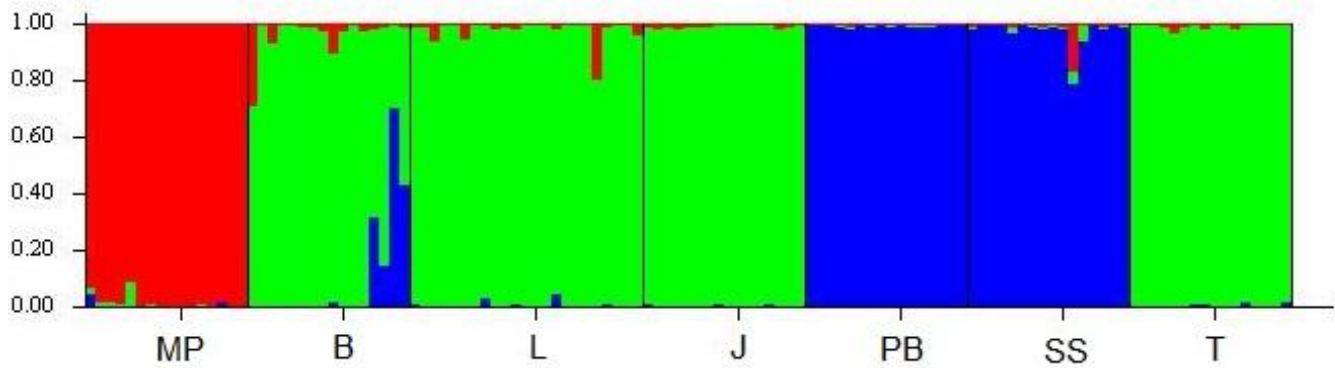


Figura 4. Análisis de estructura genética para *Natalus mexicanus*.

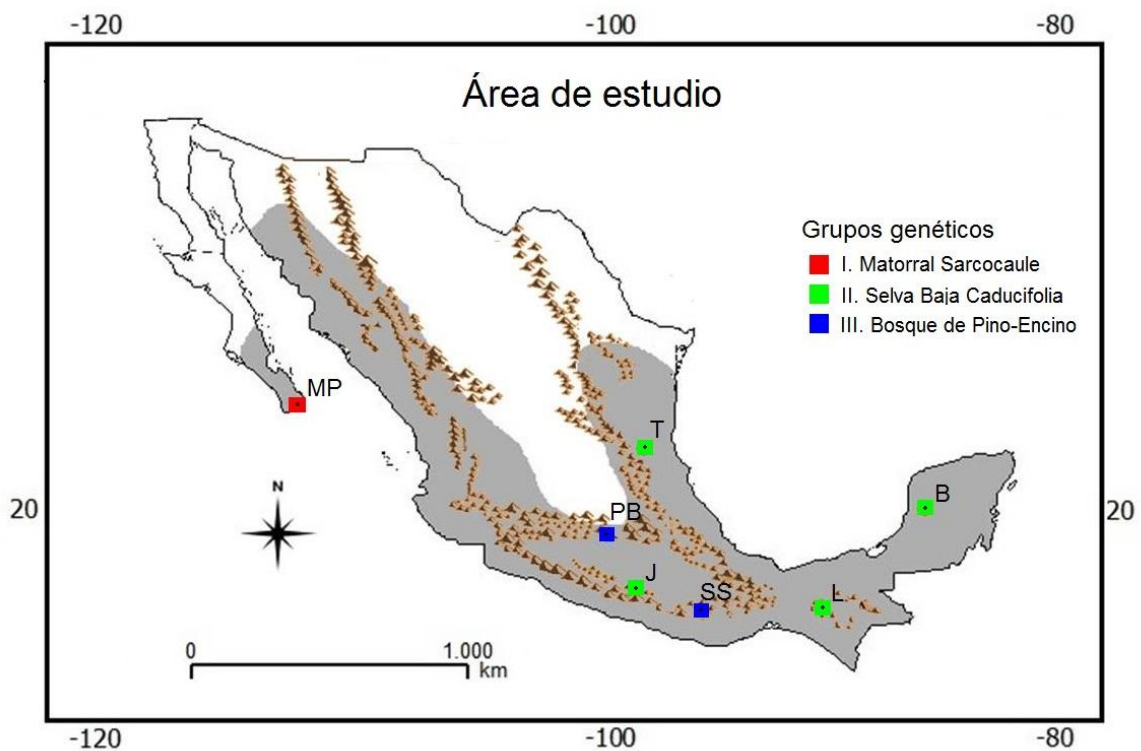


Figura 5. Ubicación de las siete localidades donde se recolectaron muestras de *Natalus mexicanus*, indicando a que grupo pertenecen, de acuerdo al análisis STRUCTURE.

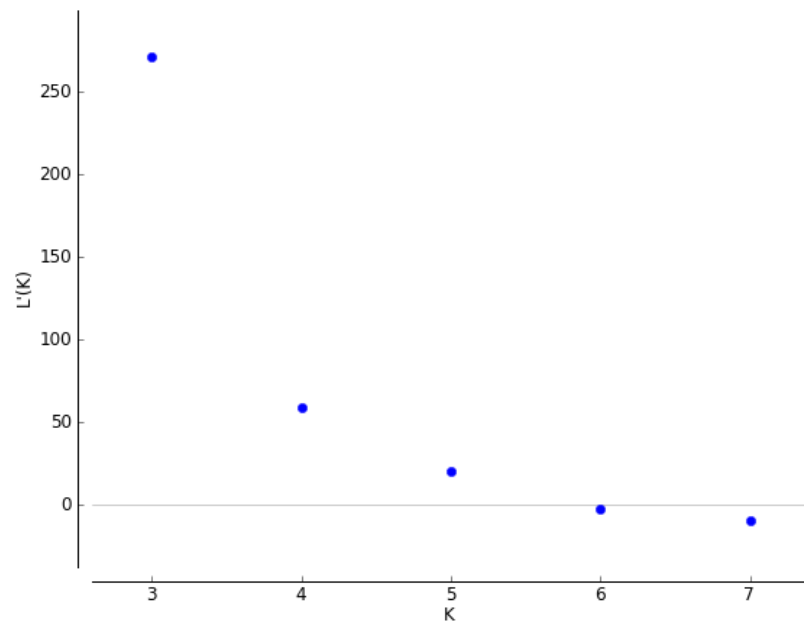


Figura 6. Prueba estadística propuesta por Evanno.

ANÁLISIS FACTORIAL DE CORRESPONDENCIAS

El análisis factorial de correspondencia confirmó la presencia de tres grupos. En el primer eje se observa un grupo que corresponde a la localidad de **MP** (grupo **Matorral Sarcocaula**) apartada de las demás localidades y en el segundo eje factorial se observa una diferenciación en dos grupos, uno compuesto por las localidades **T**, **L**, **J** y **B** (grupo **Selva Baja Caducifolia**) y otro grupo con las localidades de **PB** y **SS** (grupo **Bosque de Pino-Encino**) (Figura 7 y Figura 8).

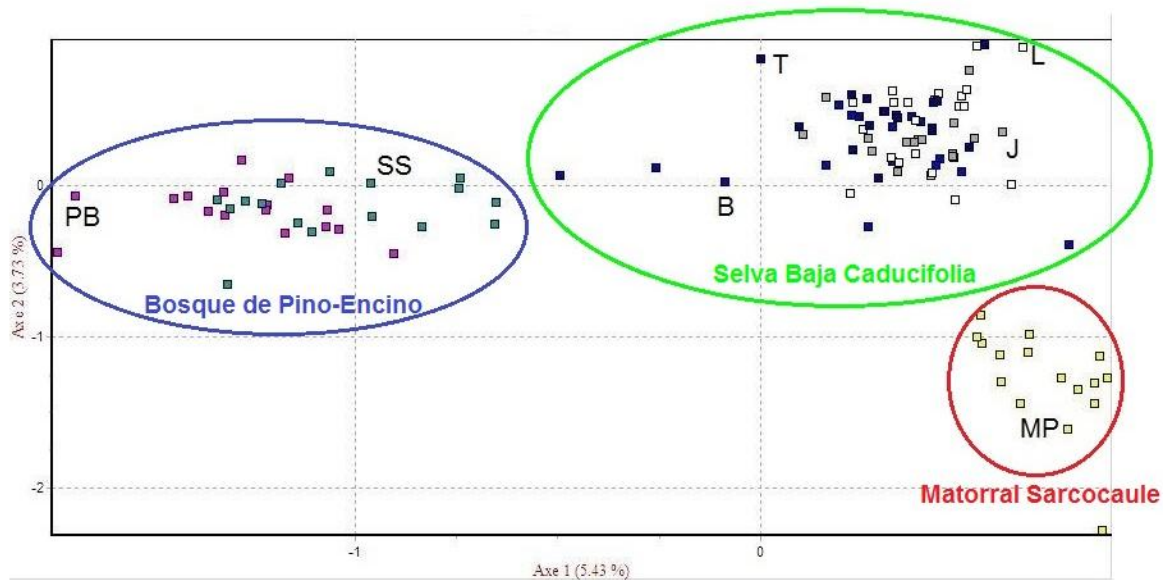


Figura 7. Análisis factorial de correspondencias de individuos de *N. mexicanus* en 2D.

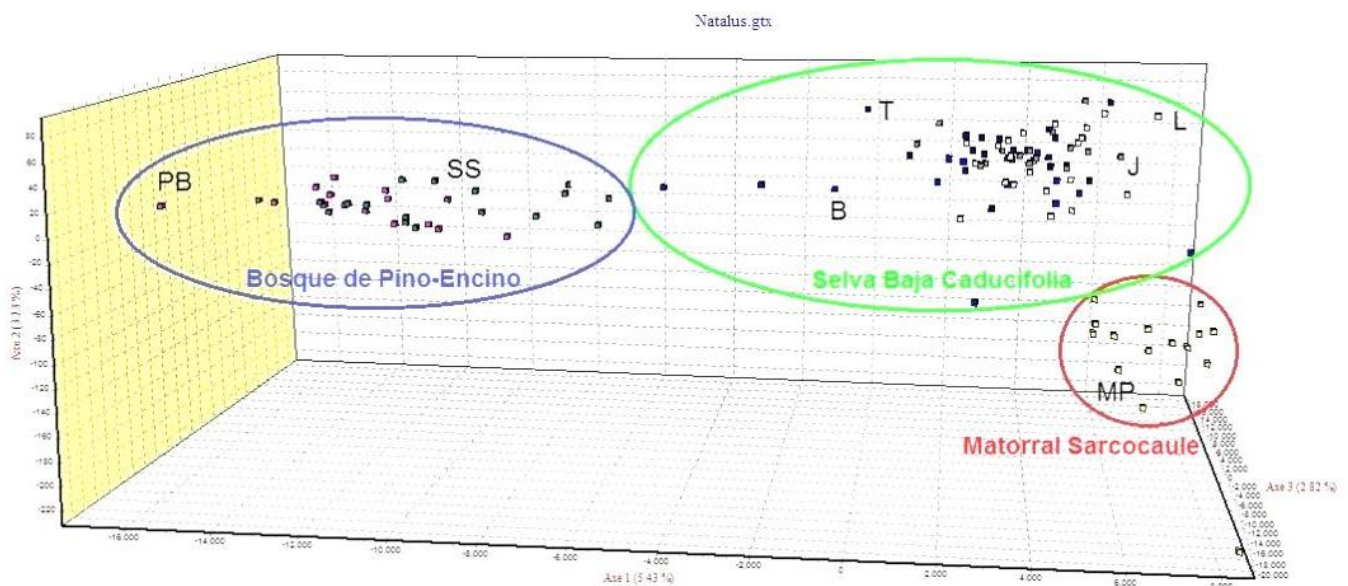


Figura 8. Análisis factorial de correspondencias de individuos de *N. mexicanus* en 3D.

ANÁLISIS DE VARIANZA MOLECULAR (AMOVA)

El AMOVA entre las localidades, indicó que la mayor fuente de variación genética se encuentra dentro de los individuos (63.8%), seguido de la variación entre individuos dentro de las localidades (21.80%) y la proporción más baja es entre las localidades (14.40%) de acuerdo a la F_{ST} . De acuerdo a la R_{ST} se observó una mayor fuente de variación dentro de los individuos (50.84%), seguido de la variación entre localidades (35.46%) y la proporción más baja entre individuos dentro de las localidades (13.70%). Mientras que el coeficiente de endogamia entre poblaciones fue de $F_{IS} = 0.254$ y $R_{IS} = 0.212$ y el coeficiente de endogamia total de $F_{IT} = 0.361$ y $R_{IT} = 0.491$ (Cuadro 8).

En el AMOVA por grupos, de acuerdo a la F_{ST} , se observó una mayor fuente de variación genética dentro de los individuos (60.15%) y la menor variación estuvo entre localidades dentro de los grupos (3.04%); mientras que de acuerdo a la R_{ST} , la mayor fuente de variación también resultó dentro de individuos (43.75%) y la proporción más baja entre localidades dentro de grupos (4.87%). Los coeficientes de endogamia entre los grupos fue de $F_{IS} = 0.254$ y $R_{IS} = 0.212$ y el coeficiente de endogamia total de $F_{IT} = 0.398$ y $R_{IT} = 0.562$ (Cuadro 9).

Cuadro 8. Resultados obtenidos del análisis de varianza molecular con base en F_{ST} y R_{ST} , por localidades. Coeficiente de diferenciación genética entre localidades (F_{ST}); Coeficiente de endogamia dentro de las localidades (F_{IS}); Coeficiente de endogamia total (F_{IT}).

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre localidades	6	130.523	0.52618	14.40
Entre individuos dentro de las localidades	112	439.654	0.78677	21.80
Dentro de individuos	119	277.500	2.33193	63.80
Total	237	847.676	3.65489	
Coeficientes		F_{ST} 0.14397	F_{IS} 0.25467	F_{IT} 0.36197
Entre localidades	6	52208.210	241.10880	35.46
Entre individuos dentro de las localidades	112	59587.891	93.16023	13.70
Dentro de individuos	119	41140.000	345.71429	50.84
Total	237	152936.101	679.98332	
Coeficientes		R_{ST} 0.35458	R_{IS} 0.21227	R_{IT} 0.49158

Cuadro 9. Resultados obtenidos del análisis de varianza molecular con base en F_{ST} y R_{ST} , por grupo. Coeficiente de endogamia dentro de las localidades (F_{IS}); Coeficiente de endogamia total (F_{IT}); Coeficiente de variación entre grupos (F_{CT}); Coeficiente de variación entre localidades dentro de grupos (F_{SC}).

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación
Entre grupos	2	98.637	0.63018	16.26
Entre localidades dentro del grupo	4	31.886	0.11773	3.04
Entre individuos dentro de localidades	112	439.654	0.79677	20.55
Dentro de individuos	119	277.500	0.79677	60.15
Total	237	847.676	2.33193	
Coeficientes	F_{IS} 0.25467	F_{IT} 0.39846	F_{CT} 0.16256	F_{SC} 0.03627
Entre grupos	2	44787.699	312.59670	39.57
Entre localidades dentro del grupo	4	7420.510	38.49983	4.87
Entre individuos dentro de localidades	112	59587.891	93.16023	11.79
Dentro de individuos	119	41140.000	345.71429	43.76
Total	237	152936.101	679.98332	
Coeficientes	R_{IS} 0.21227	R_{IT} 0.56237	R_{CT} 0.39571	R_{SC} 0.08065

DISTANCIA GENÉTICA

Las distancias genéticas de Nei entre localidades variaron de 0.034 a 0.308. Las distancias más grandes se presentaron entre las localidades de **MP** y **SS** (0.308), mientras que las distancias más cortas se presentaron entre las poblaciones de **T**, **B**, **L** y **J** (0.034 a 0.071) y entre las localidades **PB** y **SS** (0.064). Entre estos dos grupos (**T**, **B**, **L** y **J** vs **PB** y **SS**) las distancias genéticas variaron de 0.158 a 0.225, en cuanto a las distancias genéticas entre las localidades de **MP** con las demás localidades variaron de 0.168 a 0.308. Estos valores nos indican que las localidades más similares son (**T**, **B**, **L** y **J**), (**MP**), (**PB** y **SS**) (Cuadro 10). Esta estructuración genética se pudo observar con el dendograma obtenido con las distancias genéticas de Nei (Figura 9).

Cuadro 10. Matriz con valores de las distancias genéticas de Nei, por cada localidad.

	MP	B	L	J	PB	SS	T
MP	0						
B	0.149219	0					
L	0.147519	0.0345819	0				
J	0.16875	0.0667969	0.0545123	0			
PB	0.296353	0.158912	0.189831	0.209433	0		
SS	0.308007	0.167976	0.203496	0.225993	0.0648827	0	
T	0.17832	0.0535156	0.0534805	0.0717773	0.203339	0.212354	0

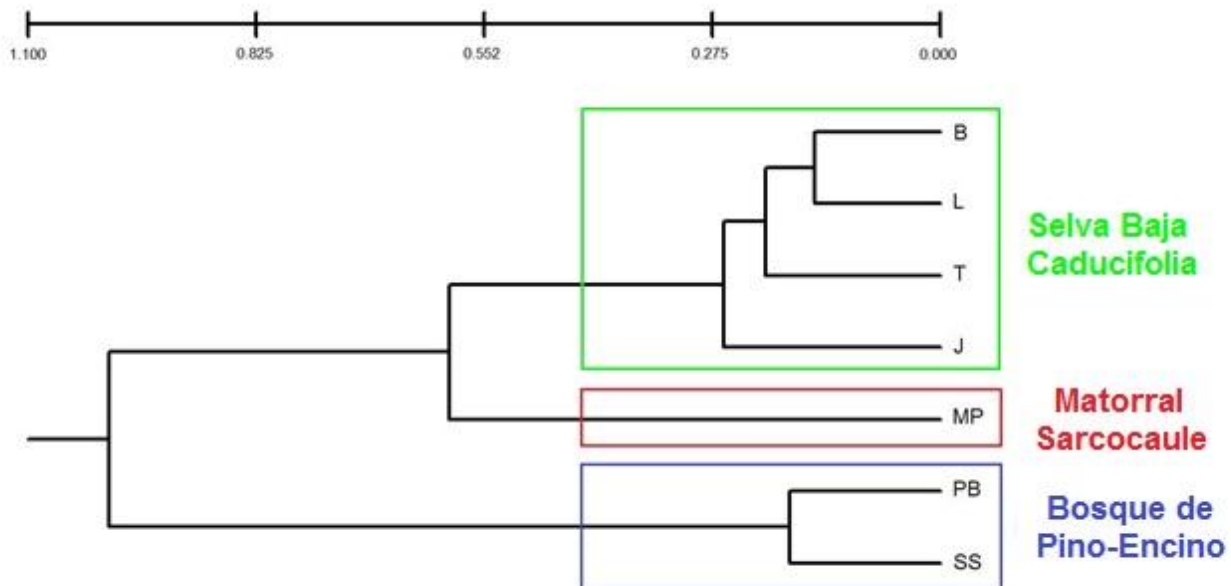


Figura 9. Dendrograma construido con base en las distancias genéticas de Nei entre localidades empleando el algoritmo UPGMA.

De acuerdo a las distancias genéticas de Nei entre los diferentes grupos, se observó que la distancia más cercana fue entre los grupos de **Selva Baja Caducifolia** y **Matorral Sarcocaula** (0.139), seguido de los grupos **Matorral Sarcocaula** y **Bosque de Pino-Encino** (0.160) y las más lejana entre los grupos **Selva Baja Caducifolia** y **Bosque de Pino-Encino** (0.285) (Cuadro 11).

Cuadro 11. Matriz con valores de las distancias genéticas de Nei, por grupo.

	Selva Baja Caducifolia	Matorral Sarcocaula	Bosque de Pino-Encino
Selva Baja Caducifolia	0		
Matorral Sarcocaula	0.139465	0	
Bosque de Pino-Encino	0.285964	0.160489	0

FLUJO GENÉTICO

Las localidades con mayor número de migrantes por generación de acuerdo a la F_{ST} , son las localidades **B vs L** (23.54290), seguido de **PB vs SS** (13.62096) y las localidades con menor contacto fueron **MP vs SS** (1.09764); mientras que de acuerdo a la R_{ST} el mayor número de migrantes por generación es **L vs T** (17.21401), seguido de **B vs L** (9.78318) y las localidades con un menor número de migrantes son **J vs SS** (0.30871) (Cuadro 12).

Los grupos con mayor número de migrantes de acuerdo a la F_{ST} , son **Matorral Sarcocaulle** con **Selva Baja Caducifolia** (2.85063), seguido de **Selva Baja Caducifolia** con **Bosque de Pino-Encino** (2.49084) y el menor número de migrantes entre los grupos **Matorral Sarcocaulle** con **Bosque de Pino-Encino** (1.20221) y de acuerdo a la R_{ST} , los grupos con mayor número de migrantes son las grupos **Matorral Sarcocaulle** con **Bosque de Pino-Encino** (1.23956), seguido por **Matorral Sarcocaulle** con **Selva Baja Caducifolia** (0.73399) y el menor número de migrantes entre los grupos de **Selva Baja Caducifolia** con **Bosque de Pino-Encino** (0.62084) (Cuadro 13).

Cuadro 12. Número de migrantes efectivos por generación (N_m) de acuerdo a la F_{ST} y R_{ST} , entre localidades.

Localidades comparadas	N_m	
	F_{ST}	R_{ST}
MP-B	2.63999	1.43754
MP-L	2.60728	0.78990
MP-J	2.08464	0.46882
MP-PB	1.20220	1.29285
MP-SS	1.09764	1.11192
MP-T	2.06641	0.44370
B-L	23.54290	9.78318
B-J	9.19924	2.43933

B-PB	2.77918	1.10447
B-SS	2.42869	1.17512
B-T	11.49166	2.53725
L-J	10.72711	6.85001
L-PB	2.25224	0.62298
L-SS	2.00624	0.61544
L-T	10.21977	17.21401
J-PB	2.00581	0.39478
J-SS	1.74330	0.30871
J-T	7.84029	8.07555
PB-SS	13.62096	5.14266
PB-T	1.98567	0.39174
SS-T	1.79385	0.30997

Cuadro 13. Número de migrantes efectivos por generación (N_m) de acuerdo a la F_{ST} y R_{ST} , entre grupos genéticos.

Grupos comparados	N_m	
	F_{ST}	R_{ST}
Matorral Sarcocaulle-Selva Baja Caducifolia	2.85063	0.73399
Matorral Sarcocaulle-Bosque de Pino-Encino	1.20221	1.23956
Selva Baja Caducifolia-Bosque de Pino-Encino	2.49084	0.62084

9.3. DIVERSIDAD GENÉTICA

POR LOCALIDAD

El total de alelos registrados en los 119 individuos con los 10 loci de microsatélites fue de 168 alelos. Se encontraron 46 alelos (27.380% del total) en la localidad de **MP**, 87 (51.785% del total) en la localidad de **B**, 98 (58.333% del total) en la localidad de **L**, 72 (42.857% del total) en la localidad de **J**, 67 (39.880% del total) en la localidad de **PB**, 59 (35.119% del total) en la localidad de **SS** y 74 (44.047% del total) en la localidad de **T**. En promedio se presentaron 71.857 alelos por localidad. En cada locus se presentaron entre 9 y 27 alelos; el locus Nm8 presentó el mayor número de alelos y el loci Nm10 el menor número. El número promedio de alelos por locus fue de 16.8.

Se encontraron un total de 54 alelos exclusivos, las frecuencias de estos alelos van de 0.022 hasta 0.375. La localidad con mayor número de alelos exclusivos fue **PB** con 13 alelos, seguida de **L** con 10 alelos y la localidad con menor número de alelos exclusivos es **T** con 2 alelos. Sin embargo la localidad con una mayor proporción de alelos exclusivos es **MP** (17.391%) seguido de **PB** (19.402%), observado una mayor frecuencia de alelos exclusivos en la localidad de **MP** (0.031-0.375). Los alelos efectivos por localidad van de 2.703 a 5.522, la localidad con el mayor número de alelos efectivos fue **MP** y el menor número de alelos efectivos en la localidad de **L** (Anexo 2).

Las frecuencias alélicas por localidad y locus fueron variables, oscilando entre 0.022 y 0.938 (Anexo 3), mientras que la riqueza alélica varió entre 2 y 14 alelos por locus para cada localidad.

Para cada locus y localidad se comparó la heterocigosidad observada (H_O) con la esperada (H_E), observado que para el 77% de los casos la H_O fue menor que la H_E . En promedio la H_O para todas las localidades y loci fue de 0.532, la H_E de 0.675 y la H_{NEI} 0.696. Los valores de heterocigosis observada fueron variables, la localidad de **B** presento el valor más alto (0.681) y el valor mas bajo en la localidad

de **MP** (0.356). Para la heterocigosis esperada, el valor más alto se obtuvo en la localidad de **L** (0.759) y el valor más bajo en **MP** (0.575). Por último la heterocigosis esperada de Nei en las localidades varió desde 0.766 (localidad **L**) hasta 0.593 (localidad **MP**) (Cuadro 14).

Cuadro 14. Medidas de diversidad genética para cada localidad de *Natalus mexicanus*. Heterocigosis observada (H_O); Heterocigosis esperada (H_E); Heterocigosis esperada de Nei (H_{NEI}).

Localidad		Locus										Media
		Nm1	Nm2	Nm3	Nm4	Nm5	Nm6	Nm7	Nm8	Nm9	Nm10	
MP	H_O	0.563	0.000	0.563	0.250	0.625	0.125	0.688	0.750	0.00	0.00	0.356
	H_E	0.695	0.375	0.451	0.662	0.563	0.773	0.775	0.654	0.398	0.398	0.575
	H_{NEI}	0.718	0.387	0.466	0.683	0.581	0.798	0.800	0.675	0.411	0.411	0.593
B	H_O	0.813	0.188	0.688	0.875	0.875	0.938	0.938	0.438	0.875	0.188	0.681
	H_E	0.854	0.176	0.777	0.875	0.891	0.729	0.834	0.844	0.832	0.688	0.750
	H_{NEI}	0.881	0.181	0.802	0.903	0.919	0.752	0.861	0.871	0.859	0.710	0.774
L	H_O	0.652	0.130	0.826	0.692	0.870	0.739	0.652	0.435	0.696	0.478	0.617
	H_E	0.862	0.334	0.802	0.865	0.874	0.621	0.853	0.821	0.873	0.684	0.759
	H_{NEI}	0.881	0.341	0.819	0.884	0.894	0.635	0.871	0.840	0.893	0.700	0.776
J	H_O	0.938	0.063	0.438	0.625	0.625	0.688	0.688	0.750	0.563	0.313	0.569
	H_E	0.867	0.271	0.684	0.828	0.736	0.703	0.824	0.875	0.789	0.525	0.710
	H_{NEI}	0.895	0.280	0.706	0.855	0.760	0.726	0.851	0.903	0.815	0.542	0.733
PB	H_O	0.688	0.313	0.625	0.500	0.438	0.375	0.938	0.875	0.600	0.000	0.535
	H_E	0.836	0.418	0.689	0.523	0.543	0.639	0.887	0.744	0.838	0.375	0.649
	H_{NEI}	0.863	0.431	0.7120	0.540	0.560	0.659	0.915	0.768	0.867	0.387	0.670
SS	H_O	0.750	0.125	0.375	0.125	0.500	0.188	0.750	0.375	0.786	0.067	0.404
	H_E	0.830	0.416	0.658	0.398	0.565	0.510	0.809	0.557	0.760	0.349	0.585
	H_{NEI}	0.857	0.429	0.679	0.411	0.595	0.526	0.835	0.575	0.788	0.361	0.606
T	H_O	0.750	0.000	0.750	0.813	0.813	0.688	0.625	0.500	0.563	0.125	0.563
	H_E	0.846	0.117	0.791	0.738	0.859	0.652	0.738	0.898	0.826	0.490	0.696
	H_{NEI}	0.873	0.121	0.817	0.762	0.887	0.673	0.762	0.92	0.853	0.506	0.718

POR GRUPO

De los 168 alelos reportados para los 10 loci de microsatélites, 46 (27.380%) se encontraron en el grupo **Matorral Sarcocaulle**, 136 (80.952%) en el grupo **Selva Baja Caducifolia** y 84 (50.000%) en el grupo **Bosque de Pino-Encino**, presentándose en promedio 88.666 alelos por grupo. De los 92 alelos exclusivos se presentaron 8 en el grupo **Matorral Sarcocaulle** (frecuencia de 0.031-0.375), 61 en el grupo **Selva Baja Caducifolia** (frecuencia de 0.007-0.352) y 23 en el grupo **Bosque de Pino-Encino** (frecuencia de 0.016-0.161). El grupo con mayor número de alelos efectivos, fue el grupo **Selva Baja Caducifolia** (66.051), seguido del **Bosque de Pino-Encino** (37.610) y por el **Matorral Sarcocaulle** (27.033) (Anexo 4).

Las frecuencias alélicas por grupo y locus oscilaron entre 0.007-0.866 (grupo **Matorral Sarcocaulle** 0.031-0.759; grupo **Selva Baja Caducifolia** 0.866-0.007; grupo **Bosque de Pino-Encino** 0.774-0.016), mientras que la riqueza alélica varió entre 2 a 21 alelos por locus para cada grupo (grupo **Matorral Sarcocaulle** 2-9; grupo **Selva Baja Caducifolia** 7-21; grupo **Bosque de Pino-Encino** 4-14) (Anexo 5).

Para cada locus y grupo se comparó la heterocigosidad observada (H_O) con la esperada (H_E), para el 86.6% de los casos la H_O fue menor que la H_E . En promedio, la H_O para todos los grupos y loci fue de 0.478, la H_E de 0.665 y la H_{NEI} de 0.677. El valor más alto de heterocigosis observada se presentó en el grupo **Selva Baja Caducifolia** (0.608), seguida del grupo **Bosque de Pino-Encino** (0.468) y del grupo **Matorral Sarcocaulle** (0.356); mientras que el valor más alto para la heterocigosis esperada se observó en el grupo **Selva Baja Caducifolia** (0.772), seguida del **Bosque de Pino-Encino** (0.649) y del **Matorral Sarcocaulle** (0.575); y el valor más alto de la heterocigosis esperada de Nei se presentó en el grupo **Selva Baja Caducifolia** (0.777), seguida de **Bosque de Pino-Encino** (0.660) y por ultimo el grupo **Matorral Sarcocaulle** (0.593) (Cuadro 15).

Cuadro 15. Medidas de diversidad genética para cada grupo de *Natalus mexicanus*. Matorral Sarcocaula (MSC); Selva Baja Caducifolia (SBC); Bosque de Pino-Encino (BPQ); Heterocigosis esperada (H_o); Heterocigosis esperada (H_E); Heterocigosis esperada de Nei (H_{NEI}).

Localidad		Locus										Media
		Nm1	Nm2	Nm3	Nm4	Nm5	Nm6	Nm7	Nm8	Nm9	Nm10	
MSC	H_o	0.563	0.000	0.563	0.250	0.625	0.125	0.688	0.750	0.000	0.000	0.356
	H_E	0.695	0.375	0.451	0.662	0.563	0.773	0.775	0.654	0.398	0.398	0.575
	H_{NEI}	0.718	0.387	0.466	0.683	0.581	0.798	0.800	0.675	0.411	0.411	0.593
SBC	H_o	0.775	0.099	0.690	0.746	0.803	0.761	0.718	0.521	0.676	0.296	0.608
	H_E	0.905	0.244	0.823	0.884	0.884	0.705	0.850	0.907	0.871	0.649	0.772
	H_{NEI}	0.911	0.246	0.828	0.890	0.890	0.710	0.856	0.914	0.877	0.654	0.777
BPQ	H_o	0.719	0.219	0.500	0.313	0.462	0.281	0.844	0.625	0.690	0.032	0.468
	H_E	0.843	0.424	0.689	0.466	0.672	0.653	0.882	0.674	0.812	0.373	0.649
	H_{NEI}	0.857	0.431	0.700	0.473	0.686	0.663	0.896	0.685	0.826	0.379	0.660

10. DISCUSIÓN

10.1. EVALUACIÓN DE LOS LOCI

Este trabajo representa el primer estudio sobre la variabilidad genética intraespecífica de *Natalus mexicanus* utilizando marcadores microsatélites.

Los resultados de *N. mexicanus* indicaron una desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg en todas las localidades, debido a una deficiencia de heterocigotos. Los locus que presentaron este desequilibrio de HW por localidad, coinciden con los locus que presentan alelos nulos, así que este exceso de homocigotos se le atribuye a la presencia de alelos nulos (Brookfield, 1996), sin embargo estos loci no se eliminaron del análisis debido a que no afectan los resultados de la F_{ST} ni el de distancias genéticas.

Las localidades que presentaron un mayor número de loci en desequilibrio de HW, fueron **MP** (Baja California Sur) y **SS** (Oaxaca) con 5 loci, localidades que también presentaron los valores más altos del índice del coeficiente de endogamia, de acuerdo al cálculo de Weir y Cockerham ($F_{IS}=0.444$ y 0.410 respectivamente), lo que sugiere que este exceso de homocigotos en estas localidades también puede deberse a endogamia.

Por otro lado los resultados de GENEPOP indican que no hay evidencia de desequilibrio de ligamiento para todos los loci, así que estos loci se están transmitiendo independientemente, es decir que no ocurren asociaciones no aleatoria entre alelos de diferentes loci (Hedrick, 2005).

Los resultados de HW, alelos nulos y desequilibrio de ligamiento indican que los loci son adecuados para este estudio.

10.2. ESTRUCTURA GENÉTICA

El análisis de asignación de individuos realizado con el programa STRUCTURE, distribuyó a los individuos en tres grupos diferenciados. El grupo **Matorral Sarcocaula** que está conformado por la localidad de **MP**, el grupo **Selva Baja Caducifolia** por las localidades de **B, L, T** y **J** y el grupo **Bosque de Pino-Encino** por las localidades de **PB** y **SS** (Figura 4). Esta estructuración, es apoyada por el análisis de correspondencia factorial, el AMOVA, las distancias genéticas de Nei y el flujo genético.

Los resultados del AMOVA indicaron un alta estructura genética, estos valores fueron mayores a los obtenidos para otros murciélagos como *Plecotus auritus*, *Nyctalus azoreum*, *Myotis vivesi*, *Leptonycteris yerbabuena* y *Artibeus jamaicensis*, que presentaron una estructuración notablemente baja, un alto flujo de genes y una alta diversidad genética, lo que es atribuido a su elevado potencial de dispersión; en cambio en otros murciélagos (*Myotis capaccinii* y *Desmodus rotundus*) se reportaron valores mas altos, que son considerados como significativos (Cuadro 16). Los valores del AMOVA entre grupos también sustentan esta estructuración, al observar un alto coeficiente de variación entre grupos ($F_{CT}=0.1625/R_{CT}=0.395$).

En cuanto al flujo genético, se presentó un mayor número de migrantes entre localidades dentro de los diferentes grupos ($F_{ST}=7.840$ a 23.542 y $R_{ST}=2.439$ a 17.214), que entre las localidades de diferentes grupos ($F_{ST}=1.097$ a 2.779 y $R_{ST}=0.308$ a 1.437) y los valores de flujo genético entre grupos presentan un bajo número de migrantes ($F_{ST}=1.2$ a 2.85 y $R_{ST}=0.62$ a 1.23).

Estos valores de F_{ST}/R_{ST} , F_{CT}/R_{CT} y de flujo genético, indican que existe una alta estructuración entre los tres grupos y una conectividad entre las localidades que integran los diferentes grupos de *N. mexicanus*. Sin embargo a pesar de que hay una clara estructura entre grupos, es posible que no se encuentren completamente aisladas entre sí debido al número de migrantes, aunque se tiene que considerar que al realizar este cálculo, se asume que la diferencia o similitud

entre las poblaciones es producto directo del flujo génico, no obstante el que las poblaciones estudiadas sean similares genéticamente, también puede deberse a cuestiones históricas (Mills y Allendorf, 1996; Cunningham y Moritz, 1998; Barrios-Gómez, 2013). Entonces el número de migrantes encontrado en este estudio no necesariamente estaría indicando un alto flujo entre los diferentes grupos, pero si dentro de los diferentes grupos.

Cuadro 16. Valores de F_{ST} y R_{ST} en diferentes especies de murciélagos utilizando microsatelites.

Especie	F_{ST}	R_{ST}	Referencia
<i>Plecotus auritus</i>	0.001	-	Furmankiewicz y Altrigham, 2007
<i>Nyctalus azoreum</i>	0.036	-	Salgueiro <i>et al.</i> , 2008
<i>Myotis vivesi</i>	0.002	-	Floyd <i>et al.</i> , 2010.
<i>Leptonycteris yerbabuena</i>	0.022	-	Ramírez, 2011
<i>Artibeus jamaicensis</i>	0.008 0.009	-	Ortega <i>et al.</i> , 2003 Vázquez-Domínguez, 2013
<i>Natalus mexicanus</i>	0.1439	0.3545	Este estudio
<i>Myotis capaccinii</i>	0.252	-	Viglino, 2012
<i>Desmodus rotundus</i>	0.37	0.39	Romero-Nava <i>et al.</i> , 2014

Esta estructuración genética particionada en tres grupos geográficos, se puede explicar por la presencia de los sistemas montañosos en México, que actúan como barreras de dispersión geográfica para diversas especies de plantas y vertebrados (Guevara-Chumacero *et al.*, 2010); en particular el grupo **Selva Baja Caducifolia** vs **Bosque de Pino-Encino**, que son separados por la Sierra Madre Oriental, con excepción de la localidad de **J** en Guerrero del grupo **Selva Baja Caducifolia**, que se conecta con el resto de las localidades de este grupo a través de la depresión del Balsas. Esta depresión se caracteriza por ser una área de tierras bajas, rodeada por la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre del Sur (Gómez-Truena y Carrasco, 2000) y es factible que actualmente esté funcionando como corredor biológico para esta especie. Por su parte, el grupo **Matorral Sarcocaula**,

correspondiente a la localidad de **MP** en Baja California Sur, se encuentra aislada geográficamente de los demás grupos por el Golfo de California.

La estructuración genética obtenida con los microsatélites no concuerda con lo reportado por López-Wilchis y colaboradores en 2012, debido a que estos autores indican que la localidad de **J** en Guerrero se encuentra en el clado de la vertiente del Pacífico junto con localidades de Baja California Sur. Esta diferencia puede deberse a que utilizaron un marcador molecular del gen citocromo b, que presenta una tasa de mutación más lenta y la estructura genética que obtuvieron se explica en términos históricos, debido a que la diversificación y colonización de la familia Natalidae (Mioceno temprano, 23-15 millones de años), fue anterior a la separación de la Península de Baja California con México (periodo de 3.5 a 12 millones de años) (Holt *et al.*, 2000; Dávalos, 2005).

Cabe destacar que cada uno de los grupos presentó localidades que comparten el mismo tipo de clima y vegetación, este patrón puede deberse por las preferencias de hábitat, que concuerda con lo mencionado por Arroyo-Cabrales y colaboradores en 1997, donde atribuyen la variación de *Natalus mexicanus* a la amplia diversidad de condiciones ecológicas y ambientales en las que se encuentra la especie.

Un aspecto importante a mencionar es la gran distancia geográfica presente entre algunas localidades de los diferentes grupos, sin embargo presentan flujo genético, esto se explica por la presencia de cuevas (donde ha sido reportado *N. mexicanus*) que se encuentran ubicadas geográficamente en puntos intermedios entre algunas localidades incluidas en este trabajo y que contribuyen a mantener el flujo genético entre algunas localidades (Figura 10).

Existen diversos factores que pueden influir en la dispersión de los murciélagos como las barreras físicas, el comportamiento reproductivo, patrones históricos de colonización y la pérdida y fragmentación (Burland y Wilmer, 2001; Campbell *et al.*, 2009). Lamentablemente, poco se sabe acerca de la ecología poblacional y el

grado de dispersión de *N. mexicanus* lo que restringe la comprensión de los patrones de dispersión y los factores que los pueden conducir. Se conoce que *N. mexicanus* es una especie oportunista en la selección de sitios que ocupa como refugios diurnos, ocupando con mayor frecuencia cuevas y presentando una amplia plasticidad para adaptarse a condiciones macroclimáticas (Torres-Flores, 2013).

En algunas cuevas y minas de México se ha registrado un incremento y descenso de las poblaciones de *N. mexicanus* (Hall y Dalquest, 1963; Mitchell, 1967; Vargas-Contreras, 1998; Hernández, 2000; Chávez y Ceballos, 2001; Torres-Flores, 2013). En Veracruz se observó que el tamaño de la población varió de un día a otro, alcanzando un mínimo de 2 murciélagos y un máximo de 300 a lo largo de un mes (Hall y Dalquest, 1963); en Nayarit se reportaron 1,000 *Natalus* en Junio y 6,000 en Diciembre (Hernández, 2000); mientras que en Sonora se observaron alrededor de 1,000 individuos de Noviembre a Abril, reduciéndose la población a solo 200 individuos en Junio y Julio (Mitchell, 1967). Estas fluctuaciones del tamaño poblacional muestran un comportamiento migratorio (Hernández, 2000).

En Sonora y Tamaulipas se observó una alternancia estacional en refugios cercanos; esta discontinuidad estacional en las cuevas y el bajo porcentaje de recaptura reportado en algunos estudios, sugiere que *N. mexicanus* tiene poca fidelidad a la cueva, que podría deberse a la disponibilidad y cercanía de otras cuevas, lo que indica que en casos de disturbio o de alguna modificación en las condiciones del sitio primario pueden utilizar otros refugios alternativamente (Mitchell, 1967; Vargas-Contreras, 1998; Torres-Flores, 2013).

En un estudio en Colima, se observó que los cambios temporales en el tamaño de la población, se deben a la segregación sexual durante la etapa reproductiva, así como los nacimientos y la dispersión de los jóvenes (Torres-Flores, 2013). Este limitado movimiento por parte de las hembras, se ha observado en varios

murciélagos, lo que indica una fuerte filopatría a las áreas natales, que podría conducir a la dispersión masculina para evitar competencia (Moussy, 2013).

De los diferentes grupos, las localidades del grupo **Selva Baja Caducifolia** presentaron un mayor flujo genético, esto puede deberse al tipo de vegetación que comparten. Este tipo de vegetación, se caracteriza por una marcada estacionalidad climática, que afecta la disponibilidad de alimento, por lo que varios mamíferos (incluyendo murciélagos) llevan a cabo movimientos a escalas regionales o biogeográficas, lo que permite reducir la competencia por el alimento (Ceballos, 1995; Chávez y Ceballos, 2001; Romero-Nava, 2014).

En la Reserva de la Biosfera Chamela - Cuixmala, Jalisco, que presenta selva baja y mediana caducifolia se observó que *Natalus* están presente únicamente durante el verano, sin que se conozca a donde se desplazan, pudiendo moverse diariamente varios kilómetros hasta las fuentes de agua, o bien migrar a regiones con mayor disponibilidad de alimento, pero se desconoce la extensión de sus desplazamientos y si las migraciones son regionales o geográficas (Chávez y Ceballos, 2001).

Sin embargo la morfología alar de los murciélagos puede dar una idea de la amplitud de su dispersión. Se predice que, para que un vuelo sea económico energéticamente para migraciones de largas distancias (>1,000 km), es necesario alta relación de aspecto y media carga alar, pero si el tiempo es una limitación importante se presentaría una alta carga alar; mientras que para distancias cortas o para especies migratorias facultativas (200 km) se observa una relación de aspecto menor que el promedio. *N. mexicanus* presenta una proporción de índice de aspecto promedio y baja carga alar que indicaría un vuelo lento y maniobrable (Norberg y Rayner, 1987), con una capacidad de dispersión para distancias cortas. Estos datos sugieren que *N. mexicanos* solo realiza movimientos locales, lo que contrasta con los resultados de flujo genético de este trabajo, lo que indicaría que esta especie puede llegar a desplazarse distancias más largas, pero con varias escalas en sus recorridos.

Los valores obtenidos del de flujo genético y la hipótesis generada sobre la capacidad de dispersión de *N. mexicanus*, pueden ser comparables con un estudio realizado en el Suroeste de Polonia con *Plecotus auritus*, que es un murciélago pequeño considerado como sedentario y no migratorio, sin embargo presentó una $F_{ST}=0.001$, que sugiere un alto flujo de genes, a pesar de que este murciélago presenta una baja relación de aspecto y una baja carga alar, que teóricamente indicaría que este murciélago se mueve distancias significativamente cortas, sin embargo por anillamiento se han registrado movimientos de hasta 88 Km (Furmankiewicz y Altrigham, 2007). Esto sugiere que murciélagos con este tipo de características morfológicas pueden efectuar desplazamientos más largos, lo que indica que *N. mexicanus* puede llegar a desplazarse distancias considerables.

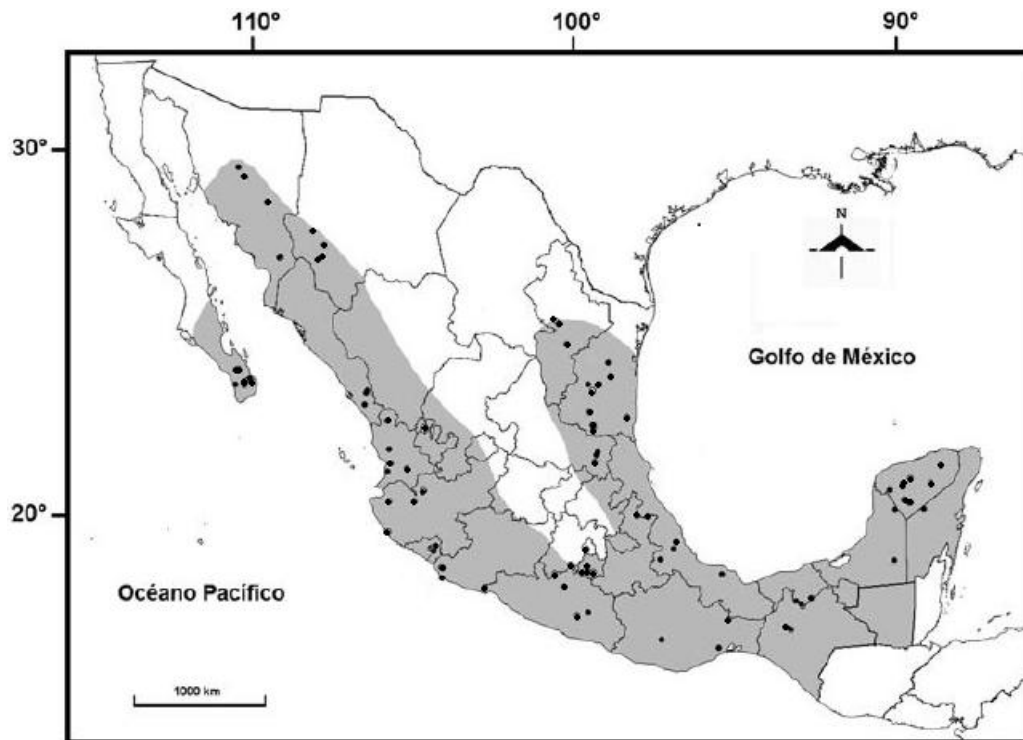


Figura 10. Refugios de *Natalus mexicanus* reportados en la bibliografía (•); El área sombreada representa su distribución geográfica en México. Modificado de Torres-Flores y López-Wilchis (2010).

10.3. DIVERSIDAD GENÉTICA

Se obtuvieron 168 alelos en los 119 individuos. La cantidad de alelos presentó una estrecha relación con los valores de flujo genético entre las localidades de los diferentes grupos. El mayor porcentaje de alelos fue el grupo de **Selva Baja Caducifolia** con 136 alelos (80.9% del total) y cuyas localidades presentaron los valores más altos de flujo genético ($Nm F_{ST}=7.840$ a $23.542/R_{ST}=2.439$ a 17.214), además este tipo de vegetación es considerado como el principal tipo de hábitat para *N. mexicanus*; mientras que el grupo **Bosque de Pino-Encino** presentó 84 alelos (50% del total) y un Nm de $F_{ST}=13.620/R_{ST}=5.142$; y el grupo **Matorral Sarcocaula** con 46 alelos que corresponden al 27.3% del total y que se encuentra en Baja California Sur y está aislada de las demás localidades de estudio.

Se encontraron 54 alelos exclusivos y la localidad que presentó una mayor frecuencia de alelos exclusivos fue **MP** (0.031-0.375). Esta cantidad de alelos y la estructuración genética observada, se explica por el histórico aislamiento geográfico que ha presentado *N. mexicanus* en Baja California Sur, con respecto al continente (Hedrick, 2005). El aislamiento geográfico de esta localidad ha promovido que una mayor cantidad de alelos nulos se hallan fijado, en comparación con otras localidades, dado que cuanto más bajo sea el flujo genético, mas alelos únicos pueden llegar a fijarse (Aguirre-Planter, 2007). Esto se confirma, al ser la localidad que presentó el menor número de migrantes con respecto a las demás localidades ($Nm F_{ST}=1.097$ a $2.639/R_{ST}=0.443$ a 1.437).

Por otro lado *N. mexicanus* en general presentó una alta variabilidad genética en las localidades de estudio. Al comparar los resultados de la heterocigosidad esperada o diversidad genética obtenida en este estudio (H_O fue de 0.532, H_E de 0.675 y H_{NEI} de 0.696 por localidad y H_O fue de 0.478, H_E de 0.665 y H_{NEI} 0.677 por grupo), con lo publicado por otros autores, se puede observar que es mayor que la reportada para especies de mamíferos en peligro de extinción y con poblaciones fragmentadas como el wombat y el perro llanero, pero similares al oso pardo y a la ardilla de Idaho (Cuadro 17). Pero al comparar los resultados con otros estudios realizados con murciélagos, se observa una menor diversidad

genética, que la reportada para *P. conspicillatus*, *N. azureum*, *M. vivesi* y *A. jamaicensis*, valores que son reportados como altos niveles de diversidad genética; sin embargo es comparable con la reportada para *L. yerbabuena* y *D. rotundus* que también son consideradas como una alta diversidad (Cuadro 18).

Aunque se tiene que considerar que estas comparaciones de los resultados, son relativos, debido a que factores como número de loci y número de individuos, influyen en la diversidad genética (Vázquez-Domínguez, 2013).

Cuadro 17. Valores obtenidos en diferentes mamíferos utilizando microsatélites. Heterocigosis esperada (H_E).

Especie	H_E	Referencia
Wombat del norte (<i>Lasiorhinus krefftii</i>)	0.418	Behergaray <i>et al.</i> , 2000
Perro llanero (<i>Cynomys ludovicianus</i>)	0.5	Castellanos, 2009
Oso pardo (<i>Ursus arctos</i>)	0.693	Waits <i>et al.</i> , 2000
Ardilla de Idaho (<i>Spermophilus brunneus</i>)	0.551	Garner, 2005

Cuadro 18. Medidas de diversidad genética para diferentes murciélagos utilizando microsatélites. Número de loci de microsatélites (# loci); Número de individuos (N); Heterocogosis observada (H_O); Heterocigosis esperada (H_E); Heterocigosis esperada de Nei (H_{NEI}).

Especie	# loci	N	H_O	H_E	H_{NEI}	Referencia
<i>P. conspicillatus</i>	10	718	0.79	0.78	-	Fox, 2006
<i>N. azureum</i>	8	280	0.77-0.83	-	-	Salgueiro <i>et al.</i> , 2008
<i>M. vivesi</i>	7	257	-	0.76	-	Floyd <i>et al.</i> , 2010
<i>A. jamaicensis</i>	6	105	0.696	0.870	0.802	Vázquez-Domínguez, 2013
<i>L. yerbabuena</i>	12	484	0.691	0.581	-	Ramírez, 2011
<i>D. rotundus</i>	7	181	0.622	0.626	-	Romero-Nava <i>et al.</i> , 2014

Al analizar los resultados por localidad, se observó que las localidades con menor diversidad genética son **MP** ($H_E=0.575$; $H_{NEI}=0.593$) y **SS** ($H_E=0.5859$; $H_{NEI}=0.606$) que forman parte del grupo **Matorral Sarcocaula** y **Selva Baja Caducifolia** respectivamente. Esta disminución de heterocigotos puede deberse por un flujo limitado de genes en comparación a las demás localidades y altos valores de endogamia ($F_{IS}=0.444$ y $F_{IS}=0.410$), que puede ser propiciada en el caso de la localidad de **SS** por la topografía, debido a que se encuentra inmerso en la Sierra Madre del Sur, mientras que la localidad de **MP** se encuentra aislada por el Golfo de California.

Estos resultados tienen implicaciones en la conservación de la especie, debido a que se identificaron las localidades que presentan una mayor diversidad genética (**B**, **L** y **PB**) y la localidad que presenta la mayor cantidad de alelos únicos (**MP**), localidades que tienen que ser consideradas en programas de conservación, por ser reservorios de diversidad genética (González, 2003).

11. CONCLUSIONES

Los microsatélites utilizados fueron herramientas moleculares adecuadas para este trabajo, capaces de determinar la estructura y diversidad genética en las localidades analizadas.

Se observó la presencia de tres grupos genéticos diferenciados en México, uno en Baja California Sur y dos en la región del centro y sur del país, posiblemente delimitados por barreras geográficas, como la Sierra Madre Oriental y el Golfo de California. También se encontró un alto número de migrantes entre algunas localidades, incluyendo las del Golfo de México con una localidad del sur del Pacífico sugiriendo que la Depresión del Balsas podría estar funcionando como un corredor biológico para esta especie, que aparentemente puede llegar a desplazarse distancias amplias, pero posiblemente con varias escalas.

Por otra parte se pudo observar que cada uno de los grupos presentó localidades que comparten el mismo tipo de clima y vegetación, este patrón puede deberse a preferencias de hábitat.

En general *N. mexicanus* presenta una alta diversidad genética en México, posiblemente a su capacidad de dispersión. Sin embargo en dos localidades de estudio se observó una menor diversidad genética, debido a un flujo limitado de genes y por endogamia.

Los patrones de estructura y diversidad genética encontrada en México, puede proporcionar información valiosa acerca de los procesos históricos y actuales que actúan en esta especie.

Los resultados obtenidos tienen implicaciones en la conservación de la especie, debido a que es posible identificar poblaciones con una diversidad genética reducida, que generalmente son vulnerables a un posible cambio ambiental y considerarlas en programas de conservación, además de tomar en cuenta las localidades que presentan una mayor diversidad genética y aquellas

genéticamente diferenciadas del resto, es decir que presenten una gran cantidad de alelos únicos.

12. RECOMENDACIONES

Es necesario ampliar las localidades de estudio, de tal forma que permita esclarecer si la estructuración de las poblaciones de *Natalus mexicanus* es influida por los sistemas montañosos de México y también para entender de una forma más detallada el flujo génico y así delimitar las zonas de conectividad en el país. Asimismo es necesario un análisis más amplio utilizando marcadores de ADN mitocondrial que permitan identificar patrones históricos que han afectado la conformación actual de la variabilidad genética de *N. mexicanus* en México.

13. LITERATURA CITADA

Aguirre-Planter, E. 2007. Flujo Génico: Métodos para estimarlo y marcadores moleculares. Pp: 49- 61 en Eguiarte, L. E, V. Souza y X. Aguirre (comp) *Ecología molecular*. SEMARNAT, INE, UNAM y CONABIO, México D.F., México.

Anónimo. 2010. Lineamientos para la conducción ética de la investigación, la docencia y la difusión. División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México, D.F., 39 p.

Aranguren-Méndez, J. A., R. Román-Bravo, W. Isea, Y. Villasmil y J. Jordana. 2005. Los microsatélites (SRT's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 13: 1-6.

Arroyo-Cabrales, J., R. A. Van Den Bussche, K. H. Sigler, R. K. Chesser, y R. J. Baker. 1997. Genic variation of main land and island populations of *Natalus stramineus* (Chiroptera: Natalidae). Occasional Papers of the Museum Texas Tech University, 171: 1-9.

Barrios-Gómez, K. M. 2013. Diversidad genética de poblaciones de *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. 99 p.

Becerra, V. V. y C. M. Paredes. 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. Agricultura Técnica, 60 (3): 270-281.

Behergaray, L. B., P. Sunnucks, D. L. Alpers, S. C. Banks, and A. C. Taylor. 2000. A set of microsatellite loci for the hairy-nosed wombats (*Lasiorhinus krefftii* and *L. latifrons*). Conservation Genetics, 1: 89–92.

Belkhir, K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Arrufaste y F. Bonhomme. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000. Université de Montpellier II, Montpellier, France.

Brookfield, J. F. Y. 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology* 5: 453-455.

Burland, T. M. y J. W. Wilmer. 2001. Seeing in the dark: molecular approaches to study of bat populations. *Biological Reviews*, 76: 389-409.

Campbell, S., G. Patrick-Jean, P. J. Mitrovski, R. Mulder. 2009. Genetic differentiation among populations of a specialist-fishing bat suggests lack of suitable habitat connectivity. *Biological Conservation* 142: 2657–2664

Castellanos, M. G. 2009. El efecto de la fragmentación en la variabilidad genética de los perros llaneros (*Cynomys ludovicianus*) en Janos – Nuevo Casas Grandes, Chihuahua, México. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 140 p.

Ceballos, G. 1995. Vertebrate diversity, ecology, and conservation in neotropical dry forests. Pp. 195-220, En: *Seasonally Dry Tropical Forests* (Bullock, S., E. Medina y H. Mooney, Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

Chapuis, M-P y A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular and Biology Evolution*, 24: 621–631.

Chávez, C. y Ceballos G. 2001. Diversidad y abundancia de murciélagos en selvas secas de estacionalidad contrastante en el oeste de México. *Revista Mexicana de Mastozoología*, 5: 27-44.

CMCM (comp.). 2011. Lista de especies CITES. Parte 1. Secretaría CITES, Centro de Monitoreo de la Conservación Mundial., Ginebra, 552 p.

Cornejo, R. A., D. A. Serrato, A. R. Beatriz y M. M. G. Rocha. 2014. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: Aspectos Teóricos y prácticos. SEMARNAT. 256 p.

Cunningham, M. y C. Moritz. 1998. Genetic effects of forest fragmentation on a rainforest restricted lizard (Scincidae: *Gnypetoscincus queenslandiae*). *Biological Conservation*, 83: 19-30.

Dalquest, W. W. 1950. The Genera of the Chiropteran Family Natalidae. *Journal of Mammalogy*, 31: 436-443.

Dalquest, W. W. y E. R. Hall. 1949. A new subspecies of funnel-eared bat (*Natalus mexicanus*) from eastern Mexico. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 62: 153–154.

Dávalos, L. M. 2005. Molecular phylogeny of funnel-eared bats (Chiroptera: Natalidae), with notes on biogeography and conservation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37: 91–103.

Demarchi, D. 2009. Microsatélites, distancias genéticas y estructura de poblaciones nativas sudamericanas. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 11:73-88

Eguiarte, L. E., V. Souza y X. Aguirre (Comp.). 2007. *Ecología molecular*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 592 p.

Eriksson, G. 2000. Genética evolutiva y conservación genética. Investigación Agrícola: Sistemas de Recursos Forestales, 2:209-219

Evanno, G, S. Regnaut y J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: A simulation study. Molecular Ecology, 14: 2611-2620.

Excoffier, L, G. Laval y S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 1:47-50.

Floyd, C. H., J. J. Flores-Martínez, L. G. M. Herrera, O. Mejía y B. May. 2010. Conserving the endangered Mexican fishing bat (*Myotis vivesi*): genetic variation indicates extensive gene flow among islands in the Gulf of California. Conservation Genetics, 11: 813–822.

Fox, S. J. 2006. Population structure in the spectacled flying fox, *Pteropus conspicillatus*: a study of genetic and demographic factors. Ph.D. Tesis. School of Marine and Tropical Biology, James Cook University. 157 p.

Frankham, R., J. D. Ballou y D. A. Briscoe. 2005. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra. Segunda edición. 644 p.

Furmankiewicz, J. y J. Altringham. 2007. Genetic structure in a swarming brown long-eared bat (*Plecotus auritus*) population: evidence for mating at swarming sites. Conservation Genetics, 8: 913–923.

Garner, A., J. L. Rachlow y L. P. Waits. 2005. Genetic diversity and population divergence in fragmented habitats: Conservation of Idaho ground squirrels. Conservation Genetics, 6: 759–774.

Gómez-Truena, A., G. N. Carrasco. 2000. Cerro Grande volcano the evolution of a Miocene stratonoce in the early Trans-Mexican Volcanic Belt. *Tectonophysics*, 318: 249-280.

González, E. G. 2003. Microsatélites: sus aplicaciones en la conservación de la biodiversidad. *Graellsia*, 59: 377-388.

Goodwin, G. G. 1959. Bats of the subgenus *Natalus*. *American Museum Novitates*, 1977:1–22.

Guevara-Chumacero, L. M., R. López-Wilchis, F. F. Pedroche, J. Juste, C. Ibáñez y I. D. L. A. Barriga-Sosa. 2010. Molecular phylogeography of *Pteronotus davyi* (Chiroptera: Mormoopidae) in Mexico. *Journal of Mammalogy*, 91: 220–232.

Hall, E. R. y W. W. Dalquest. 1963. The mammals of Veracruz. University of Kansas publications Museum of Natural History, 14: 165-362.

Hamilton, M. B. 2009. *Populatio genetics*. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ. 407 p.

Hancock, J. M. 1999. Microsatellite and other simple sequence: genomic context and mutational mechanisms. Pp. 1-9, En: *Microsatellites Evolution and Applications* (Goldstein, D. B., C. Schöetterer, Eds.). Oxford University.

Hedrick, P.W., 2005. *Genetics of Populations*, 3rd ed. Jones and Bartlett, Boston. 737 p.

Hernández, A. A. 2000. Análisis de la riqueza estacional y altitudinal de murciélagos (Chiroptera: Mammalia) en la Sierra de San Juan, Nayarit. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., 59 p.

Holt, J. W., E. W. Holt, and J. M. Stock. 2000. An age constraint on Gulf of California rifting from the Santa Rosalia basin, Baja California Sur, Mexico. *Geological Society of America Bulletin*, 112:540–549.

INEGI. 2009. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. www.inegi.gob.mx. (Consultada 1/10/2013).

Jiménez, P. y Collada, C. 2000. Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales*, 2: 237-248.

Langella, O. 1999. Populations 1.2.28 (12/5/2002): a population genetic software. CNRSUPR9034. <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/> (Consultada 24/06/2014).

López-Wilchis, R., L. M. Guevara-Chumacero, N. A. Pérez, J. Juste, C. Ibáñez e I. D. L. A. Barriga-Sosa. 2012. Taxonomic Status Assessment of the Mexican Populations of Funnel-Eared Bats, Genus *Natalus* (Chiroptera: Natalidae). *Acta Chiropterologica*. 14: 305-316.

Medellín, R. A., H. T. Arita y O. Sánchez. 2008. Identificación de los murciélagos de México, clave de campo, Segunda Edición. Instituto de Ecología, UNAM. 78 p.

Meirmans, P. G. 2006. Using the AMOVA framework to estimate a standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 60: 2399–2402.

Miller, G. S. 1902. Twenty new American bats. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 54:389–412.

Miller, M. P. 1997. Tools for Population Genetic Analysis (TFPGA). Ver. 1.3. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff. 30p

Mills, L. S. y Allendorf F. W. 1996. The One-Migrant-per-Generation Rule in Conservation and Management. *Conservation Biology*, 10: 1509-1518.

Mitchell, G. C. 1967. Population study of the funnel-eared bat (*Natalus stramineus*) in Sonora. *Southwestern Naturalist*, 12:172–175.

Moussy, C., D. J. Hosken, F. Mathews, G. C. Smith, J. N. Aegerter y S. Bearhop. 2013. Migration and dispersal patterns of bats and their influence on genetic structure. *Mammal Review*, 43: 183–195.

Norberg, U. M. y J. M. V. Rayner. 1987. Ecological morphology and flight in bats (Mammalia: Chiroptera): wing adaptations, flight performance, foraging strategy and echolocation. *Philosophical Transactions of Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 316: 335–427.

Ortega, J., J. E. Maldonado, G. S. Wilkinson, H. T. Arita y R. C. Fleischer. 2003. Male dominance, paternity, and relatedness in the Jamaican fruit-eating bat (*Artibeus jamaicensis*). *Molecular Ecology*, 12: 2409–2415.

Peakall, R. y P.E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.

Piñero, D., A. Barahona, L. Eguiarte, A. O. Roncha, R. S. Lizana. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, 415-435 p.

Pritchard, J. K., M. Stephens y P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2): 945-959.

Ramírez, J. 2011. Population genetic structure of the lesser long-nosed bat (*Leptonycteris yerbabuenae*) in Arizona and México. Tesis de maestría. The University of Arizona. 90 p.

Raymond, M. y F, Rousset 1995. GENEPOP (version 4.0): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86: 248-249.

Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical test. *Evolution*, 43: 223-225.

Romero-Nava, C., L. León-Paniagua y J. Ortega. 2014. Microsatellites loci reveal heterozygosis and population structure in vampire bats (*Desmodus rotundus*) (Chiroptera: Phyllostomidae) of Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 62: 659-669.

Salgueiro, P., J. M. Palmeirim, M. Ruedi y M. M. Coelho. 2008. Gene flow and population structure of the endemic Azorean bat (*Nyctalus azoreum*) based on microsatellites: implications for conservation. *Conservation Genetics* 9: 1163–1171.

Schuelke, M. 2000. An economic method for the fluorescent labelling of PCR fragments. *Nature Biotechnology*, 18: 233-234.

Selkoe, K. A. y R. J. Toonen 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9: 615–629.

SEMARNAT. 2010. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Norma Oficial Mexicana, NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental—Especies nativas de México de flora y fauna silvestres—Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de especies en riesgo. *Diario Oficial de la Federación*, Segunda Sección, jueves 30 de diciembre de 2010: 1–77.

Sikes, R. S., W. L. Ganon, and Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy* 92: 235–253.

Slatkin, M. 1994. Gene flow and population structure. Pp. 3-17, En. *Ecological Genetics*, Editado por L. Real.. Princeton University Press, Princeton.

Spide, P. L., M. F. Rothschild y W. W. Wundor. 1984. *Genética aplicada*. UNAM. México. 219 p.

Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acidis Research* 17: 6463-6471.

Tejedor, A. 2006. The type locality of *Natalus stramineus* (Chiroptera: Natalidae): implications for the taxonomy and biogeography of the genus *Natalus*. *Acta Chiropterologica*, 8: 361–380.

Tejedor, A. 2011. Systematics of funnel-eared bats (Chiroptera: Natalidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 353: 1-140.

Tejedor, A., V. D. C. Tavares y G. Silva-Taboada. 2005. A revision of extant Greater Antillean bats of the genus *Natalus*. *American Museum Novitates*, 3493: 1-22.

Torres-Flores, J. W. 2013. Dinámica poblacional, patrón reproductivo, dieta, selección de condiciones microclimáticas y hábitos de percha de *Natalus mexicanus* (Chiroptera: Natalidae) en la parte central de Colima, México. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana. 213 p.

Torres-Flores, J. W. y R. López-Wilchis. 2010. Condiciones microclimáticas, hábitos de percha y especies asociadas a los refugios de *Natalus stramineus* en México. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 26: 191–213.

Van Oosterhout, C, W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills y P. Shipley. 2004. MICROCHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4: 535-538.

Vargas-Contreras, J. A. 1998. Factores microclimáticos y selección del refugio diurno por murciélagos cavernícolas en Gómez Farías, Tamaulipas. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, 126 p.

Vázquez-Domínguez, E., A. Mendoza-Martinez, L. Orozco-Lugo y A. D. Cuarón. 2013. High dispersal and generalist habits of the bat *Artibeus jamaicensis* on Cozumel Island, Mexico: an assessment using molecular genetics. *Acta Chiropterologica*, 15: 411–421.

Velazco, P. y W. Pineda. 2008. *Natalus mexicanus*. En: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2013.1. <www.iucnredlist.org>. (Consultado 31/07/2013).

Viglino, A. 2012. Study of variability and genetic structure of European populations of *Myotis emarginatus* and *Myotis capaccinii* (Chiroptera, Vespertilionidae). Tesis de Doctorado. Università di Bologna. 158 p.

Waits, L., P. Taberlet, J. E. Swenson, F. Sandegren, and R. Franzen. 2000. Nuclear DNA microsatellite analysis of genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctos*). *Molecular Ecology*, 9: 421–431.

14. ANEXOS

Anexo 1. Presencia de alelos nulos por locus y localidades con los valores de p calculados con el método de Brookfield. Locus con alelos nulos (*)

Localidad	Locus									
	Nm1	Nm2	Nm3	Nm4	Nm5	Nm6	Nm7	Nm8	Nm9	Nm10
MP	0.078	0.272*	-0.076	0.247*	-0.04	0.365*	0.049	-0.057	0.284*	0.284*
B	0.022	-0.01	0.050	0.000	0.008	-0.120	-0.056	0.220*	-0.023	0.296*
L	0.112*	0.152*	-0.013	0.090*	0.002	-0.072	0.108*	0.212*	0.094*	0.122*
J	-0.037	0.164*	0.146*	0.111*	0.064	0.009	0.074	0.066	0.126*	0.139
PB	0.080	0.074	0.038	0.015	0.068	0.160*	-0.026	-0.075	0.129*	0.272*
SS	0.043	0.205*	0.170*	0.195*	0.041	0.213*	0.032	0.116	-0.014	0.209*
T	0.051	0.104	0.022	-0.042	0.025	-0.021	0.065	0.209*	0.144*	0.245*

Anexo 2. Frecuencias alélicas por localidad y locus. Numero de alelos por locus (N_a); Alelos exclusivos (*); Numero de alelos efectivos (N_e).

Locus	Alelos	Localidades						
		MP	B	L	J	PB	SS	T
Nm1	211	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	213	0.000	0.000	0.065	0.063	0.000	0.000	0.250
	215	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000
	219	0.000	0.000	*0.022	0.000	0.063	0.063	0.000
	221	0.000	0.031	0.000	0.000	0.063	0.063	0.094
	225	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000
	229	0.000	0.031	0.196	0.000	0.000	0.000	0.031
	231	0.000	0.000	0.152	0.000	0.094	0.000	0.031
	233	0.000	0.188	0.065	0.063	0.281	0.281	0.031
	235	0.000	0.188	0.217	0.094	0.063	0.188	0.063
	237	0.000	0.188	0.065	0.250	0.125	0.031	0.156
	239	0.125	0.094	0.043	0.125	0.000	0.031	0.125
	241	0.438	0.156	0.109	0.125	0.156	0.188	0.031
	243	0.250	0.000	0.000	0.031	0.156	0.094	0.188
	245	0.188	0.063	0.000	0.063	0.000	0.031	0.000
	247	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.031	0.000
	249	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000
	251	0.000	0.000	*0.043	0.000	0.000	0.000	0.000
	255	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
		N_a	4	10	11	11	8	10
	N_e	3.282	6.827	7.247	7.529	6.095	5.885	6.481
Nm2	99	0.000	0.031	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000
	101	0.000	0.031	0.043	0.000	0.000	0.000	0.000
	105	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.031	0.000
	107	0.000	0.000	0.000	0.000	0.094	0.063	0.000
	109	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000
	111	0.250	0.000	0.130	0.125	0.000	0.125	0.000

	113	0.750	0.906	0.804	0.844	0.750	0.750	0.938	
	115	0.000	0.000	0.000	0.000	0.094	0.000	0.063	
	117	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	119	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000	
	133	0.000	0.000	*0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	
	N_a	2	4	4	3	5	5	2	
	N_e	1.600	1.213	1.501	1.373	1.718	1.712	1.133	
Nm3	154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.063	0.000	
	158	0.000	0.000	0.043	0.000	0.000	0.000	0.063	
	160	0.000	0.000	0.000	0.281	0.000	0.000	0.188	
	162	0.000	0.000	0.022	0.031	0.094	0.188	0.000	
	164	0.000	0.031	0.043	0.063	0.438	0.531	0.031	
	166	0.000	0.250	0.174	0.094	0.313	0.125	0.313	
	168	0.656	0.188	0.348	0.469	0.000	0.031	0.188	
	170	0.000	0.313	0.109	0.063	0.094	0.063	0.031	
	172	0.000	0.031	0.152	0.000	0.000	0.000	0.188	
	174	0.344	0.156	0.087	0.000	0.000	0.000	0.000	
	176	0.000	0.031	0.022	0.000	0.063	0.000	0.000	
		N_a	2	7	9	6	5	6	7
		N_e	1.822	4.491	5.038	3.160	3.220	2.926	4.785
Nm4	152	*0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	156	*0.188	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	160	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.063	0.000	
	162	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.094	0.000	0.000	
	164	0.531	0.031	0.043	0.000	0.000	0.000	0.000	
	166	0.000	0.000	*0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	
	168	0.000	0.156	0.000	0.000	0.656	0.750	0.000	
	170	0.000	0.063	0.000	0.000	0.188	0.188	0.000	
	172	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000	
	174	0.000	0.094	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	
178	0.000	*0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		

	180	0.000	0.000	*0.022	0.000	0.000	0.000	0.000
	182	0.000	0.000	*0.043	0.000	0.000	0.000	0.000
	184	0.031	0.063	0.065	0.000	0.000	0.000	0.031
	186	0.000	0.188	0.152	0.000	0.000	0.000	0.000
	188	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000
	190	0.000	0.031	0.087	0.156	0.000	0.000	0.063
	192	0.031	0.063	0.087	0.000	0.000	0.000	0.250
	194	0.031	0.000	0.109	0.000	0.000	0.000	0.063
	196	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.156
	198	0.031	0.188	0.261	0.188	0.000	0.000	0.406
	200	0.125	0.063	0.087	0.250	0.000	0.000	0.031
	202	0.000	0.000	0.000	*0.188	0.000	0.000	0.000
	206	0.000	0.000	0.000	*0.094	0.000	0.000	0.000
	216	0.000	0.000	0.022*	0.000	0.000	0.000	0.000
	N_a	8	11	12	8	5	3	7
	N_e	2.960	8.000	7.399	5.818	2.098	1.662	3.821
Nm5	263	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031*	0.000	0.000
	271	0.031*	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	273	0.000	0.094	0.000	0.000	0.031	0.600	0.000
	275	0.000	0.063	0.000	0.000	0.656	0.250	0.000
	277	0.031	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.031
	279	0.000	0.031	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000
	281	0.000	0.125	0.152	0.000	0.000	0.000	0.031
	283	0.563	0.125	0.196	0.344	0.063	0.000	0.094
	285	0.000	0.000	0.087	0.281	0.063	0.100	0.063
	287	0.000	0.125	0.043	0.031	0.031	0.050	0.063
	289	0.344	0.156	0.174	0.250	0.000	0.000	0.125
	291	0.000	0.125	0.087	0.031	0.000	0.000	0.094
	293	0.000	0.063	0.087	0.031	0.000	0.000	0.281
	295	0.000	0.063	0.087	0.000	0.000	0.000	0.125
297	0.000	0.000	0.022	0.031	0.000	0.000	0.031	

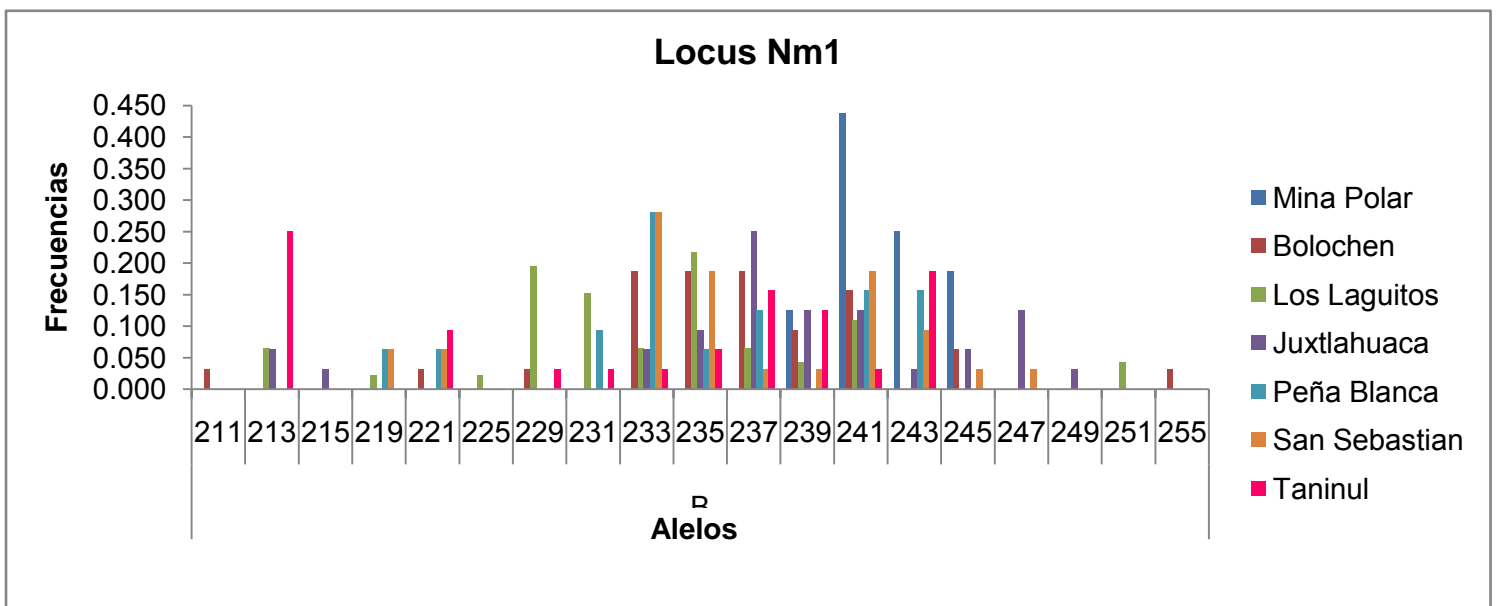
	299	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	301	*0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	307	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.031
	311	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.031
	N_a	5	11	12	7	7	4	12
	N_e	2.286	9.143	7.955	3.793	2.188	2.299	7.111
Nm6	161	*0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	163	*0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	167	*0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	169	*0.375	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	171	0.031	0.000	0.000	0.000	0.469	0.031	0.000
	173	0.094	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	177	0.031	0.000	0.000	0.031	0.250	0.313	0.000
	179	0.031	0.031	0.043	0.094	0.000	0.000	0.219
	181	0.250	0.313	0.217	0.281	0.281	0.625	0.469
	183	0.000	0.375	0.565	0.438	0.000	0.031	0.281
	185	0.000	0.125	0.087	0.000	0.000	0.000	0.000
	187	0.000	0.125	0.043	0.000	0.000	0.000	0.000
	189	0.000	0.000	0.022	0.125	0.000	0.000	0.000
	191	0.000	0.000	*0.022	0.000	0.000	0.000	0.000
	193	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.031
	N_a	9	6	7	6	3	4	4
	N_e	4.414	3.683	2.638	3.368	2.768	2.040	2.876
Nm7	267	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.063	0.000
	269	0.000	0.031	0.022	0.000	0.000	0.031	0.031
	271	0.000	0.000	*0.043	0.000	0.000	0.000	0.000
	273	0.000	0.125	0.174	0.094	0.000	0.000	0.063
	275	0.219	0.281	0.217	0.188	0.031	0.094	0.438
	277	0.313	0.156	0.087	0.000	0.031	0.219	0.188
	279	0.000	0.125	0.130	0.094	0.156	0.313	0.156
	281	0.250	0.156	0.196	0.219	0.063	0.125	0.000

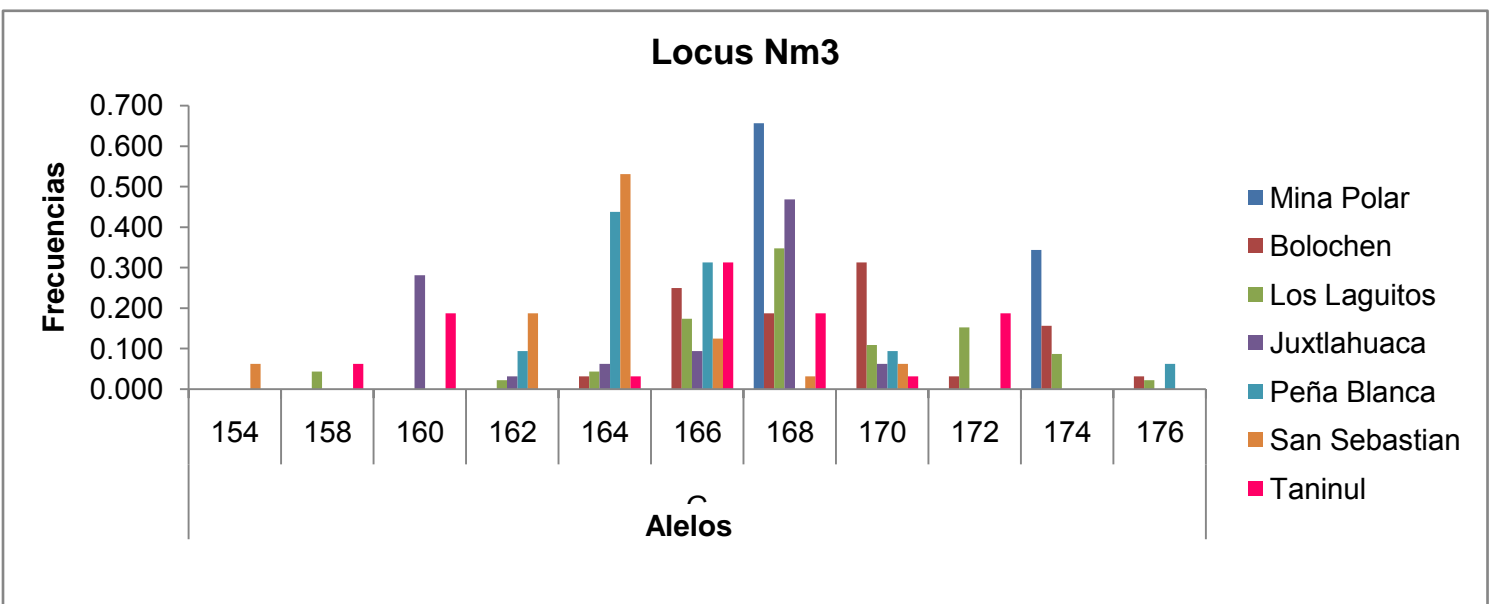
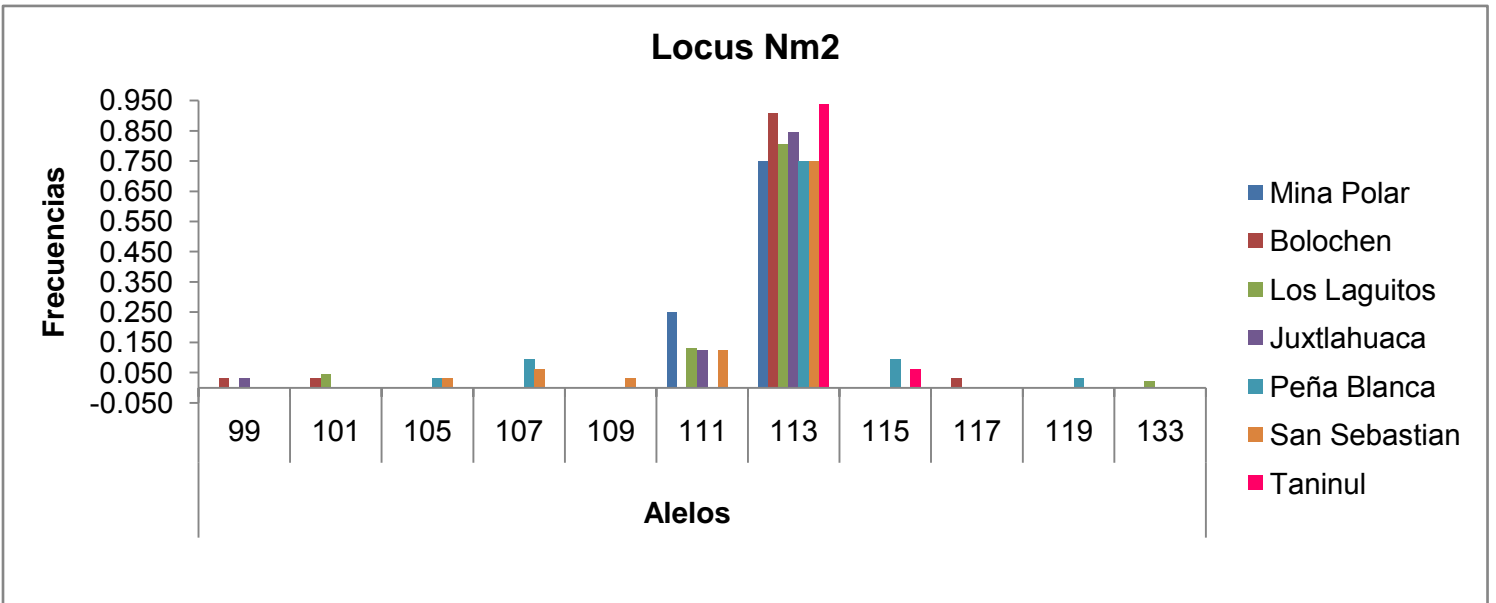
	283	0.094	0.063	0.022	0.250	0.094	0.125	0.031
	285	0.063	0.000	0.043	0.063	0.125	0.000	0.031
	287	0.000	0.000	0.022	0.000	0.156	0.031	0.063
	289	0.063	0.031	0.043	0.094	0.156	0.000	0.000
	291	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.063	0.000	0.000
	293	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.063	0.000	0.000
	295	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	297	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000
	299	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000
	N_a	6	9	11	7	12	8	8
	N_e	4.452	6.024	6.896	5.689	8.828	5.224	3.821
Nm8	108	0.000	0.000	*0.022	0.000	0.000	0.000	0.000
	156	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	162	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.063	0.000	0.000
	164	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000
	166	0.000	0.031	0.000	0.031	0.031	0.031	0.000
	168	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.031	0.000
	170	0.000	0.031	0.000	0.031	0.000	0.000	0.031
	172	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.031
	174	0.063	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000
	176	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000
	178	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000
	180	0.000	*0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	198	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000
	200	0.000	0.031	0.022	0.031	0.000	0.219	0.156
	202	0.000	0.063	0.022	0.000	0.469	0.625	0.000
	204	0.000	0.094	0.043	0.125	0.125	0.031	0.125
	206	0.313	0.031	0.022	0.031	0.063	0.031	0.094
	208	0.000	0.344	0.065	0.063	0.063	0.000	0.094
210	0.000	0.031	0.326	0.125	0.000	0.000	0.094	
212	0.000	0.063	0.087	0.125	0.000	0.000	0.125	

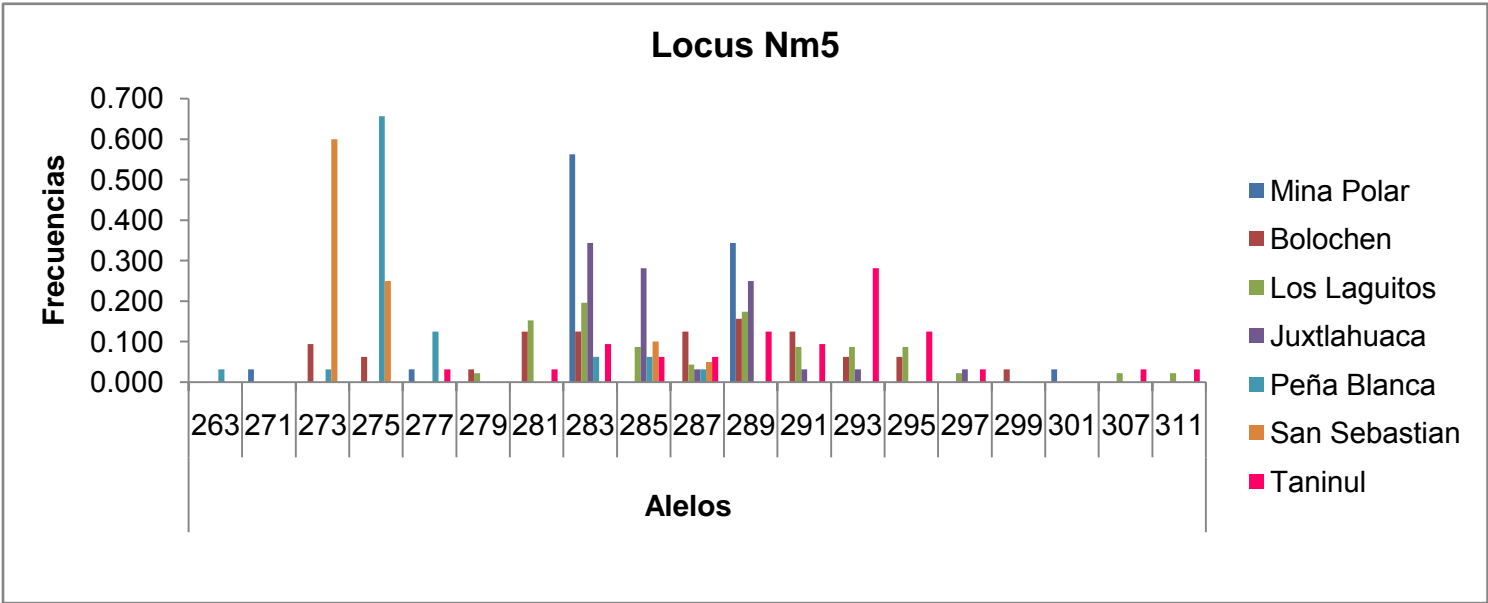
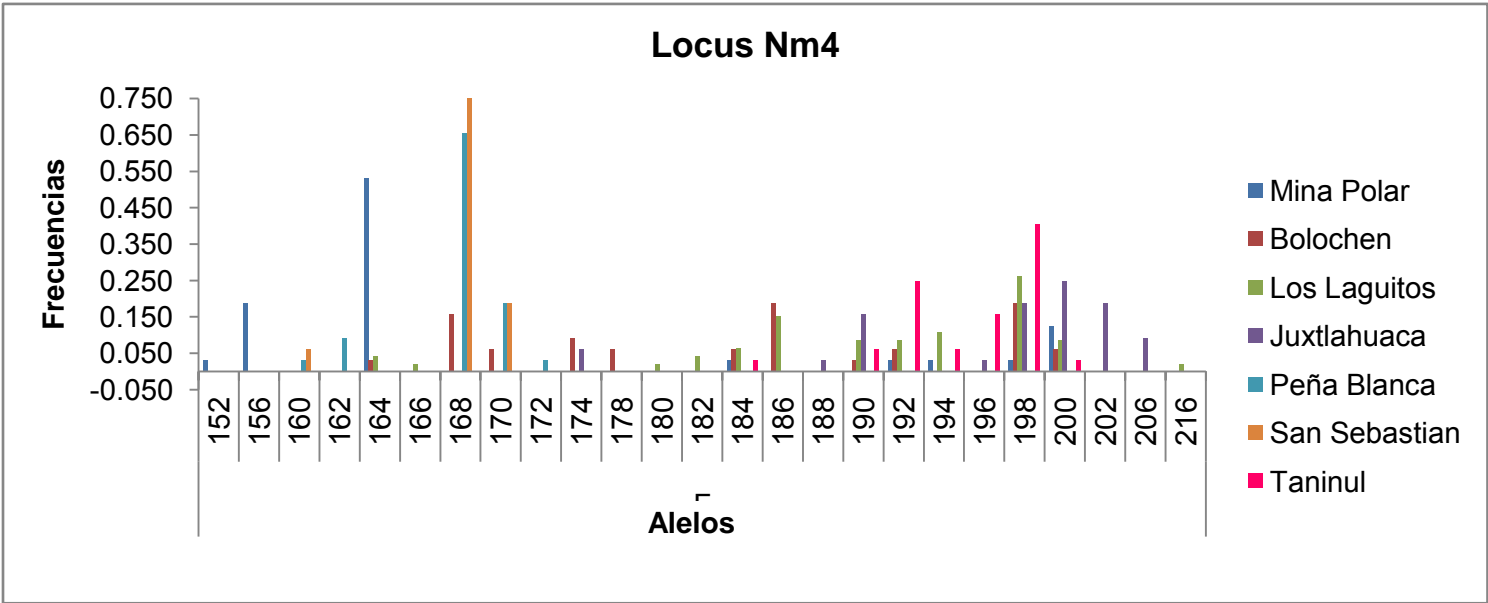
	214	0.000	0.031	0.065	0.250	0.000	0.000	0.031
	216	0.156	0.031	0.217	0.031	0.000	0.000	0.094
	218	0.469	0.063	0.022	0.031	0.000	0.000	0.063
	220	0.000	0.000	0.065	0.063	0.000	0.000	0.063
	222	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000
	226	0.000	*0.094	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	228	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031	0.000	0.000
	N_a	4	15	13	14	11	7	12
	N_e	2.893	6.400	5.598	8.000	3.908	2.256	9.846
Nm9	151	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.033	0.000	0.000
	169	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031
	171	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.036	0.000
	175	0.000	0.031	0.022	0.031	0.000	0.000	0.000
	177	0.000	0.000	0.022	0.000	0.133	0.000	0.000
	179	0.750	0.156	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000
	181	0.188	0.156	0.217	0.031	0.200	0.286	0.031
	183	0.000	0.031	0.087	0.188	0.167	0.214	0.094
	185	0.000	0.281	0.152	0.063	0.233	0.321	0.281
	187	0.000	0.094	0.130	0.313	0.133	0.071	0.063
	189	0.000	0.156	0.130	0.219	0.033	0.036	0.219
	191	0.063	0.031	0.087	0.156	0.000	0.036	0.125
	193	0.000	0.063	0.065	0.000	0.033	0.000	0.125
	195	0.000	0.000	0.022	0.000	0.033	0.000	0.000
	197	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.031
	N_a	3	9	13	7	9	7	9
	N_e	1.662	5.953	7.896	4.741	6.164	4.170	5.753
Nm10	136	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.067	0.000
	138	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.067	0.000
	144	0.188	0.219	0.239	0.000	0.000	0.000	0.000
	146	0.000	0.031	0.043	0.000	0.000	0.000	0.000
	148	0.000	0.000	0.022	0.000	0.750	0.800	0.000

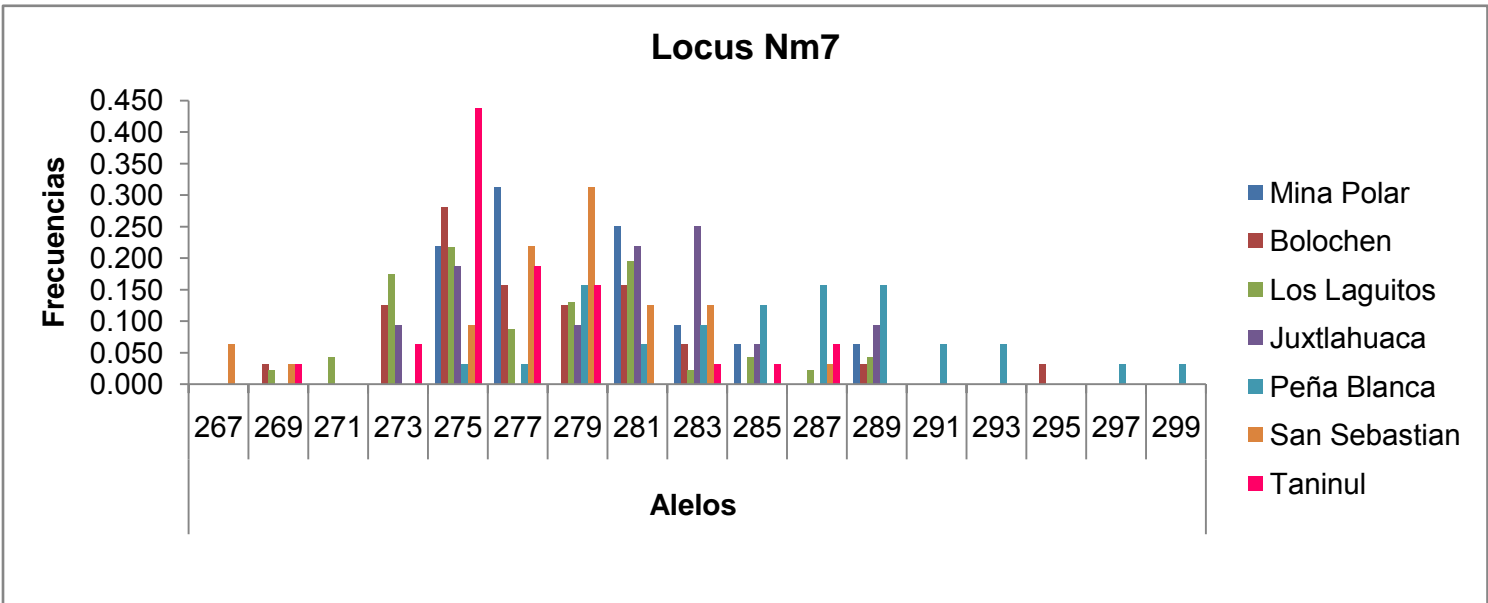
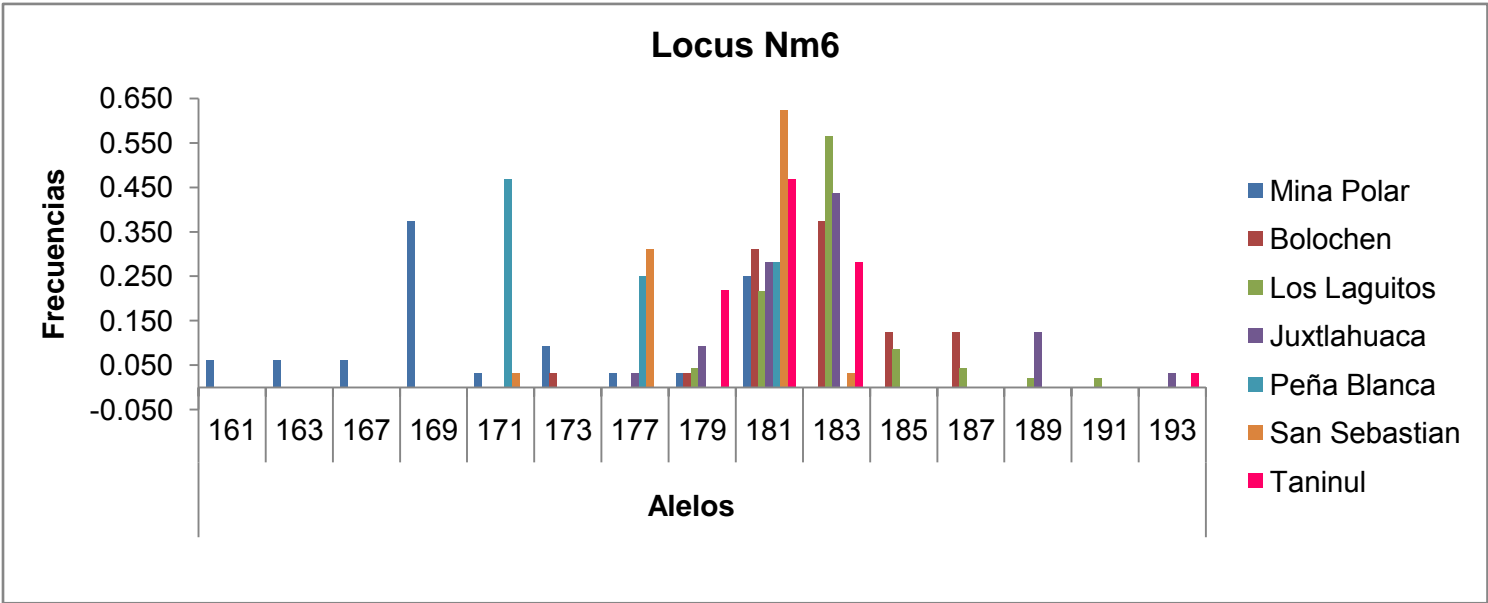
	154	0.750	0.406	0.457	0.344	0.000	0.033	0.625
	156	0.000	0.313	0.217	0.594	0.000	0.000	0.344
	158	0.063	0.031	0.022	0.063	0.000	0.033	0.000
	168	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	*0.031
	N_a	3	5	6	3	2	5	3
	N_e	1.662	3.200	3.168	2.107	1.600	1.536	1.962

Anexo 3. Frecuencias alélicas por locus y localidad

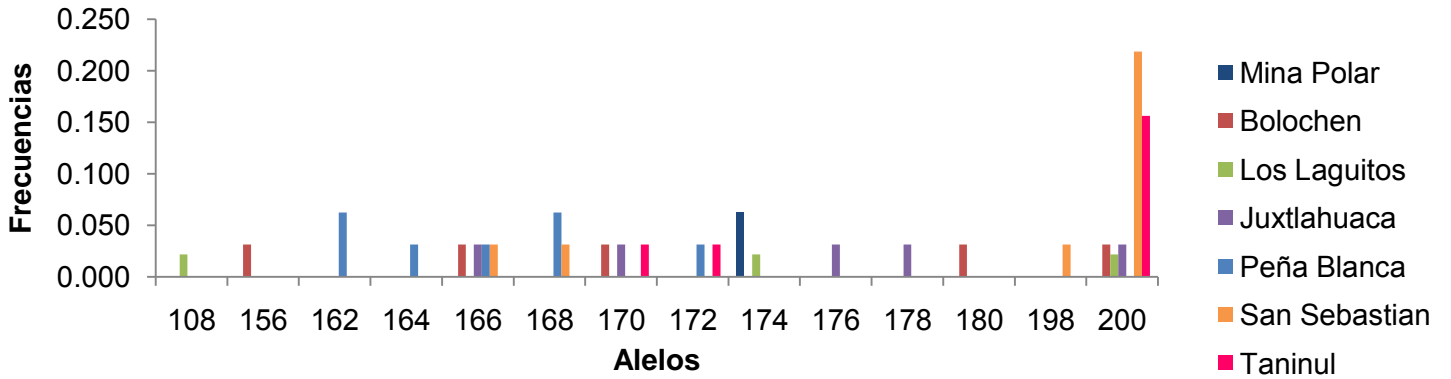




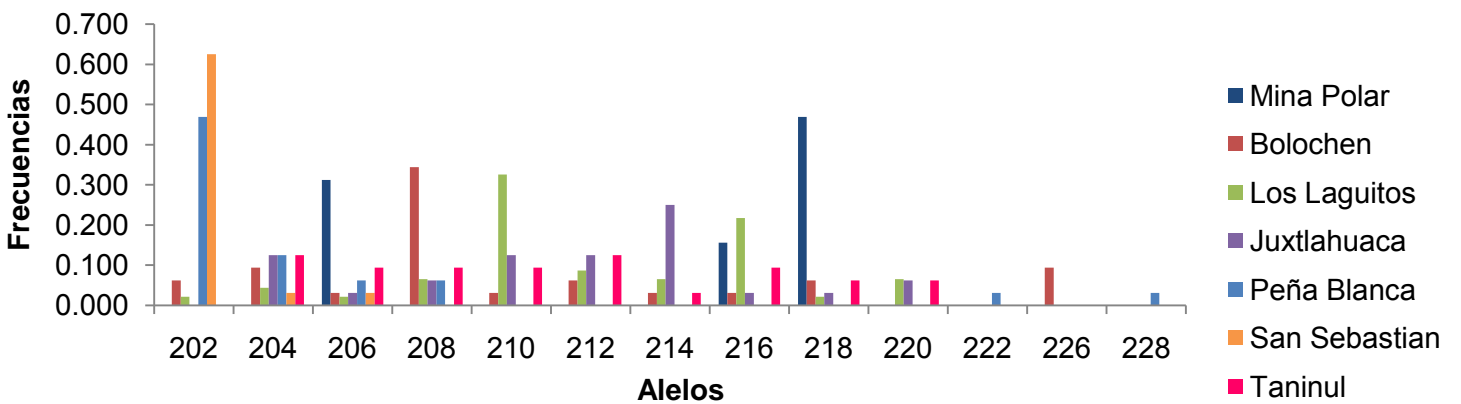


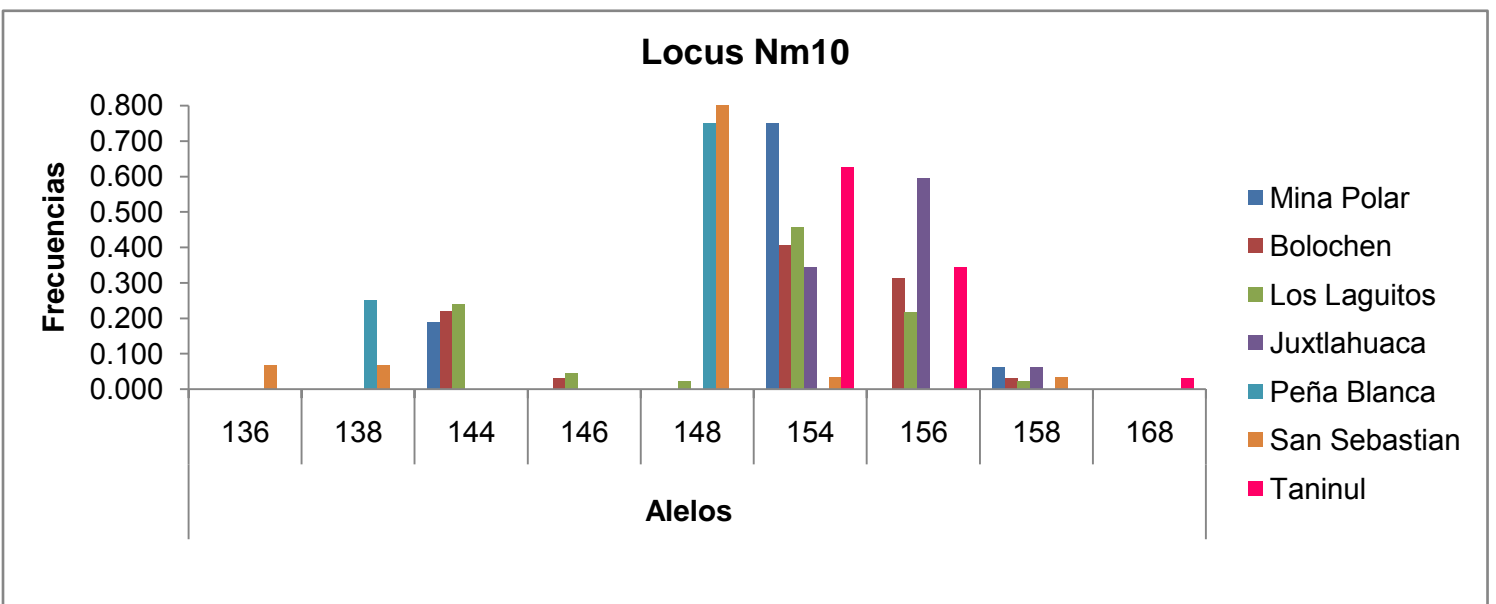
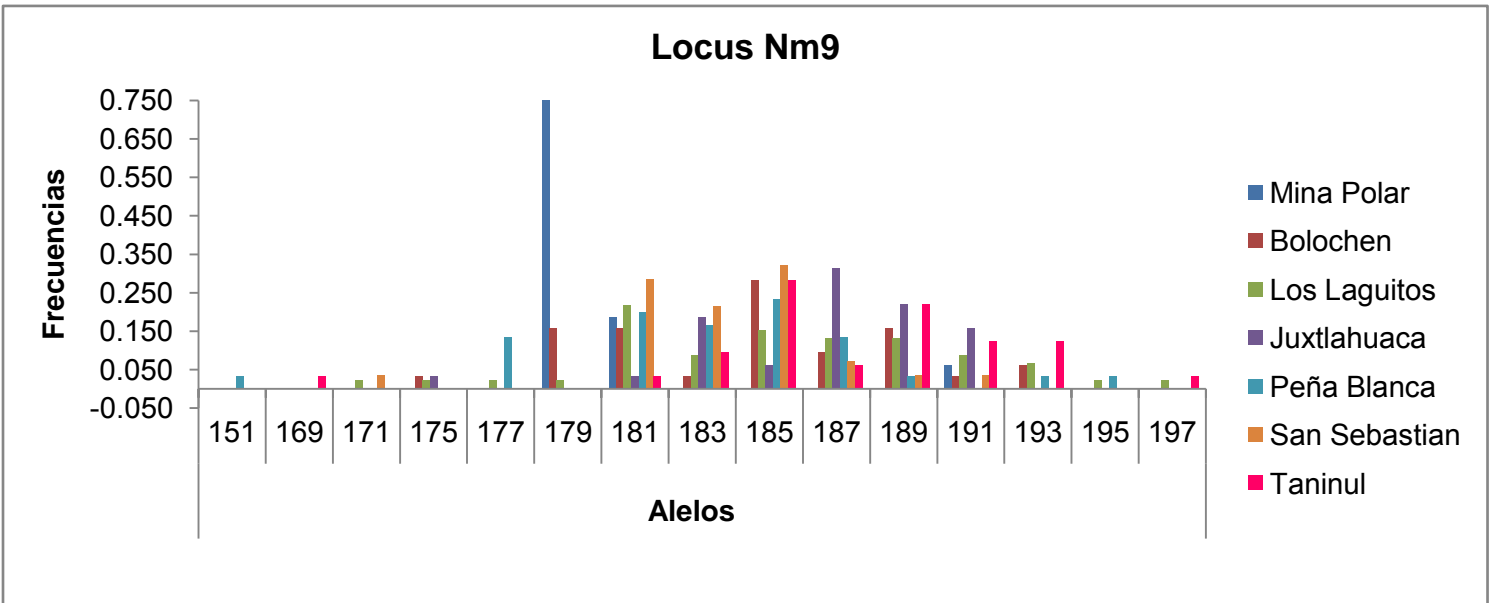


Locus Nm8 (Parte I)



Locus Nm8 (Parte II)





Anexo 4. Frecuencias alélicas por grupo y locus. Numero de alelos por locus (N_a); Alelos exclusivos (*) y Numero de alelos efectivos (N_e).

Locus	Alelos	Poblaciones		
		Matorral Sarcocaulé	Selva Baja Caducifolia	Bosque de Pino-Encino
Nm1	211	0.000	0.007*	0.000
	213	0.000	0.092*	0.000
	215	0.000	0.007*	0.000
	219	0.000	0.007	0.063
	221	0.000	0.028	0.063
	225	0.000	0.007*	0.000
	229	0.000	0.077*	0.000
	231	0.000	0.056	0.047
	233	0.000	0.085	0.281
	235	0.000	0.148	0.125
	237	0.000	0.155	0.078
	239	0.125	0.092	0.016
	241	0.438	0.106	0.172
	243	0.250	0.049	0.125
	245	0.188	0.028	0.016
	247	0.000	0.028	0.016
	249	0.000	0.007*	0.000
	251	0.000	0.014*	0.000
	255	0.000	0.007*	0.000
	N_a	4	19	11
	N_e	3.282	10.480	6.380
Nm2	99	0.000	0.014*	0.000
	101	0.000	0.021*	0.000
	105	0.000	0.000	0.031*
	107	0.000	0.000	0.078*
	109	0.000	0.000	0.016*

	111	0.250	0.070	0.063	
	113	0.750	0.866	0.750	
	115	0.000	0.014	0.047	
	117	0.000	0.007*	0.000	
	119	0.000	0.000	0.016*	
	133	0.000	0.007*	0.000	
	N_a	2	7	7	
	N_e	1.600	1.322	1.736	
Nm3	154	0.000	0.000	0.031*	
	158	0.000	0.028*	0.000	
	160	0.000	0.106*	0.000	
	162	0.000	0.014	0.141	
	164	0.000	0.042	0.484	
	166	0.000	0.204	0.219	
	168	0.656	0.303	0.016	
	170	0.000	0.127	0.078	
	172	0.000	0.099*	0.000	
	174	0.344	0.063	0.000	
	176	0.000	0.014	0.031	
		N_a	2	10	7
		N_e	1.822	5.639	3.220
Nm4	152	0.031*	0.000	0.000	
	156	0.188*	0.000	0.000	
	160	0.000	0.000	0.047*	
	162	0.000	0.000	0.047*	
	164	0.531	0.021*	0.000	
	166	0.000	0.007	0.000	
	168	0.000	0.035	0.703	
	170	0.000	0.014	0.188	
	172	0.000	0.000	0.016*	
	174	0.000	0.035*	0.000	

	178	0.000	0.014*	0.000
	180	0.000	0.007*	0.000
	182	0.000	0.014*	0.000
	184	0.031	0.042	0.000
	186	0.000	0.092*	0.000
	188	0.000	0.007*	0.000
	190	0.000	0.085*	0.000
	192	0.031	0.099	0.000
	194	0.031	0.049	0.000
	196	0.000	0.042*	0.000
	198	0.031	0.261	0.000
	200	0.125	0.106	0.000
	202	0.000	0.042*	0.000
	206	0.000	0.021*	0.000
	216	0.000	0.007*	0.000
	N_a	8	20	5
	N_e	2.960	8.602	1.872
Nm5	263	0.000	0.000	0.019*
	271	0.031*	0.000	0.000
	273	0.000	0.021	0.250
	275	0.000	0.014	0.500
	277	0.031	0.007	0.077
	279	0.000	0.014*	0.000
	281	0.000	0.085*	0.000
	283	0.563	0.190	0.038
	285	0.000	0.106	0.077
	287	0.000	0.063	0.038
	289	0.344	0.176	0.000
	291	0.000	0.085*	0.000
	293	0.000	0.113*	0.000
	295	0.000	0.070*	0.000

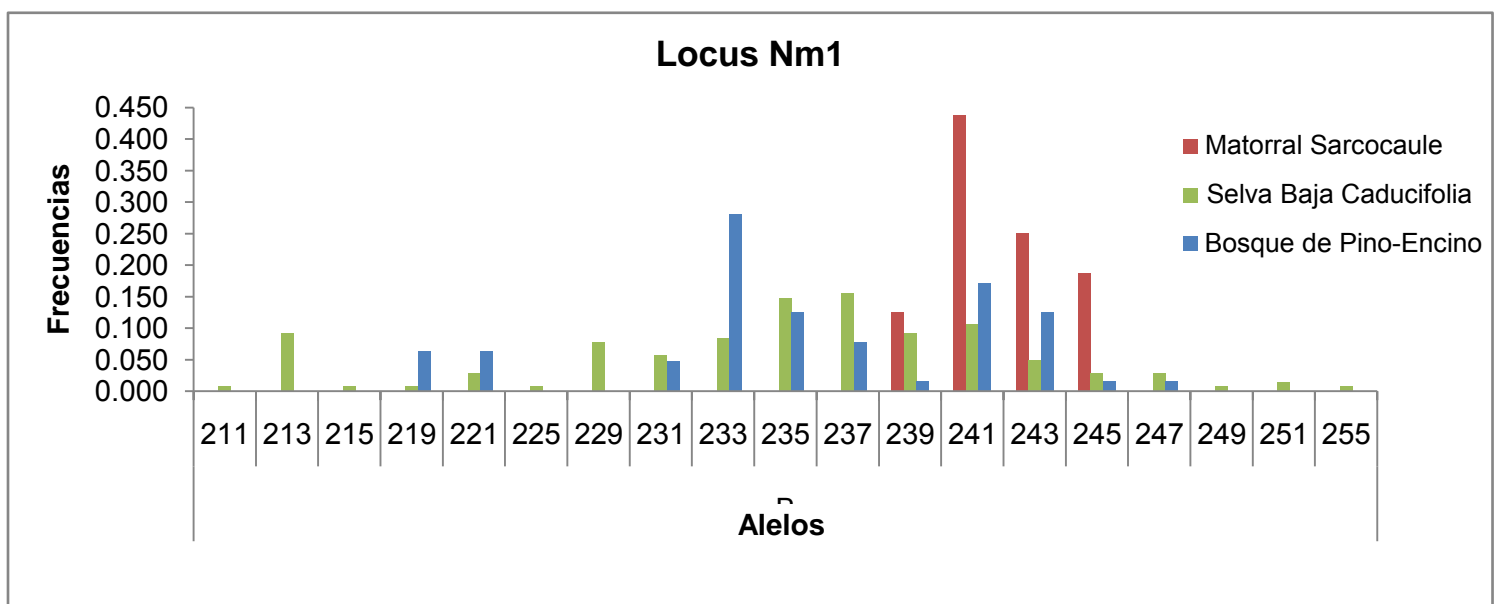
	297	0.000	0.021*	0.000
	299	0.000	0.007*	0.000
	301	0.031*	0.000	0.000
	307	0.000	0.014*	0.000
	311	0.000	0.014*	0.000
	N_a	5	16	7
	N_e	2.286	8.617	3.052
Nm6	161	0.063*	0.000	0.000
	163	0.063*	0.000	0.000
	167	0.063*	0.000	0.000
	169	0.375*	0.000	0.000
	171	0.031	0.000	0.250
	173	0.094	0.007	0.000
	177	0.031	0.007	0.281
	179	0.031	0.092	0.000
	181	0.250	0.310	0.453
	183	0.000	0.430	0.016
	185	0.000	0.056*	0.000
	187	0.000	0.042*	0.000
	189	0.000	0.035*	0.000
	191	0.000	0.007*	0.000
	193	0.000	0.014*	0.000
		N_a	9	10
	N_e	4.414	3.384	2.880
Nm7	267	0.000	0.000	0.031*
	269	0.000	0.021	0.016
	271	0.000	0.014*	0.000
	273	0.000	0.120*	0.000
	275	0.219	0.275	0.063
	277	0.313	0.106	0.125
	279	0.000	0.127	0.234

	281	0.250	0.148	0.094
	283	0.094	0.085	0.109
	285	0.063	0.035	0.063
	287	0.000	0.021	0.094
	289	0.063	0.042	0.078
	291	0.000	0.000	0.031*
	293	0.000	0.000	0.031*
	295	0.000	0.007*	0.000
	297	0.000	0.000	0.016*
	299	0.000	0.000	0.016*
	N_a	6	12	14
	N_e	4.452	6.659	8.498
Nm8	108	0.000	0.007*	0.000
	156	0.000	0.007*	0.000
	162	0.000	0.000	0.031*
	164	0.000	0.000	0.016*
	166	0.000	0.014	0.031
	168	0.000	0.000	0.047*
	170	0.000	0.021*	0.000
	172	0.000	0.007	0.016
	174	0.063	0.007	0.000
	176	0.000	0.007*	0.000
	178	0.000	0.007*	0.000
	180	0.000	0.007*	0.000
	198	0.000	0.000	0.016*
	200	0.000	0.056	0.109
	202	0.000	0.021	0.547
	204	0.000	0.092	0.078
	206	0.313	0.042	0.047
208	0.000	0.134	0.031	
210	0.000	0.162*	0.000	

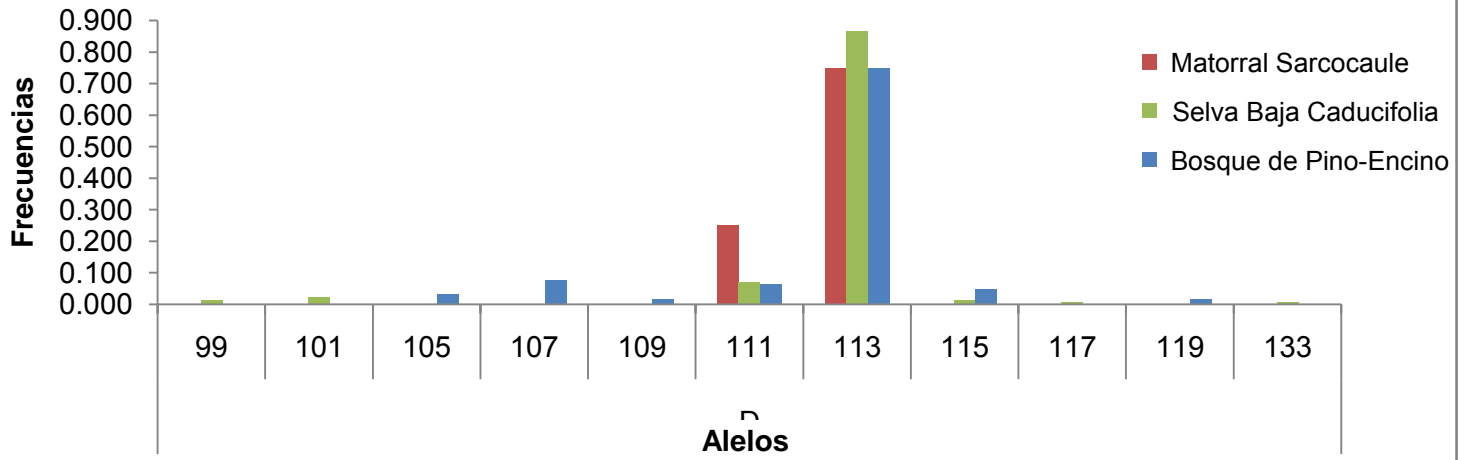
	212	0.000	0.099*	0.000
	214	0.000	0.092*	0.000
	216	0.156	0.106	0.000
	218	0.469	0.042	0.000
	220	0.000	0.049*	0.000
	222	0.000	0.000	0.016*
	226	0.000	0.021*	0.000
	228	0.000	0.000	0.016*
	N_a	4	21	13
	N_e	2.893	10.771	3.070
Nm9	151	0.000	0.000	0.017*
	169	0.000	0.007*	0.000
	171	0.000	0.007	0.017
	175	0.000	0.021*	0.000
	177	0.000	0.007	0.069
	179	0.750	0.042	0.000
	181	0.188	0.120	0.241
	183	0.000	0.099	0.190
	185	0.000	0.190	0.276
	187	0.000	0.148	0.103
	189	0.000	0.176	0.034
	191	0.063	0.099	0.017
	193	0.000	0.063	0.017
	195	0.000	0.007	0.017
	197	0.000	0.014*	0.000
	N_a	3	14	11
	N_e	1.662	7.726	5.306
Nm10	136	0.000	0.000	0.032*
	138	0.000	0.000	0.161*
	144	0.188	0.127	0.000
	146	0.000	0.021*	0.000

	148	0.000	0.007	0.774
	154	0.750	0.458	0.016
	156	0.000	0.352*	0.000
	158	0.063	0.028	0.016
	168	0.000	0.007*	0.000
	N_a	3	7	5
	N_e	1.662	2.850	1.595

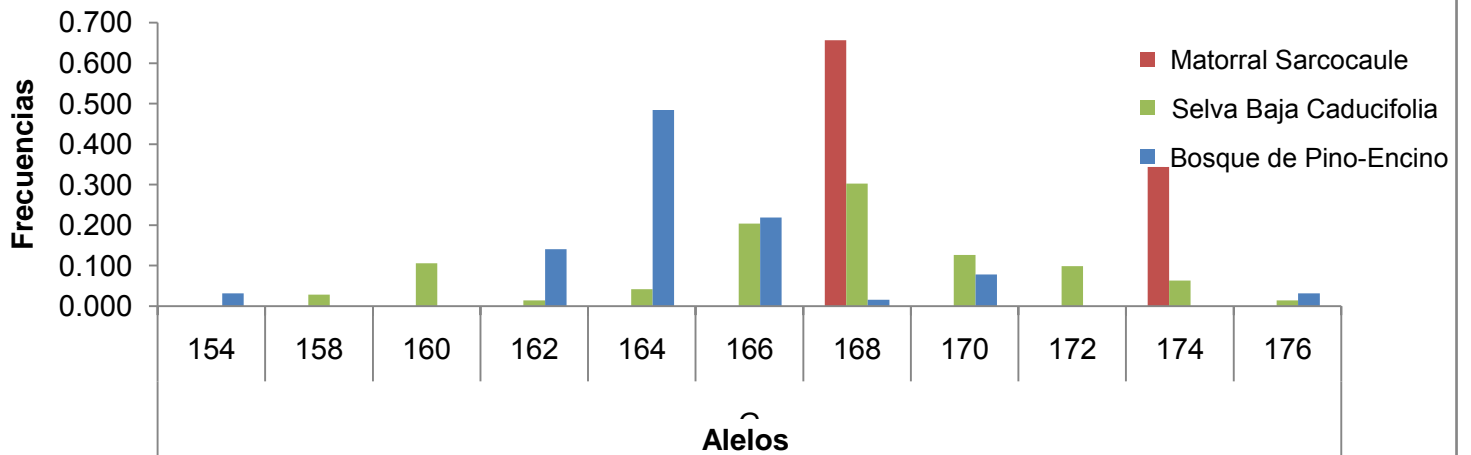
Anexo 5. Frecuencias alélicas por locus y por grupo genético



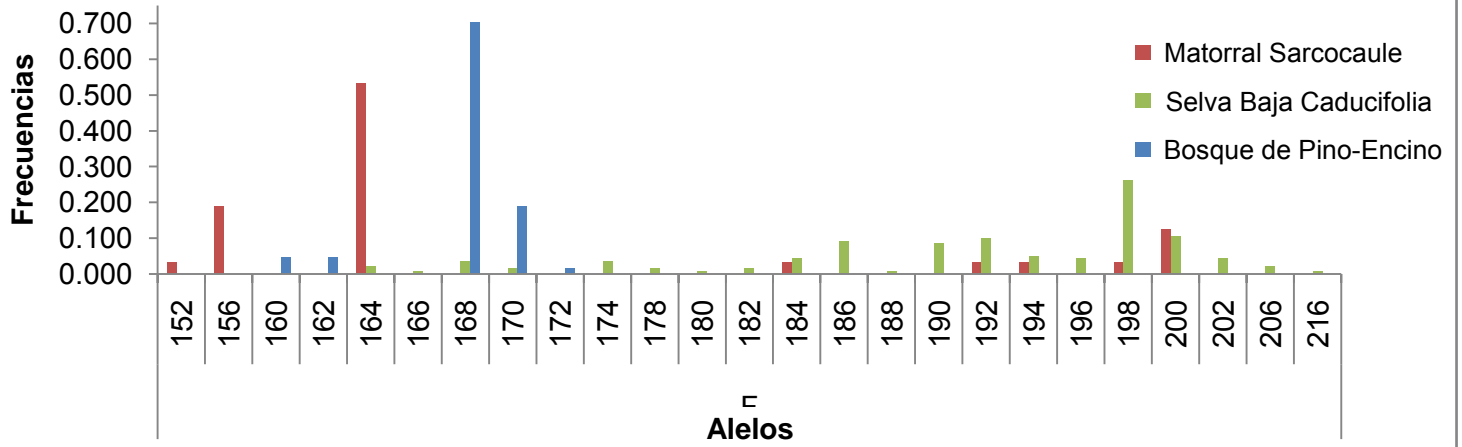
Locus Nm2



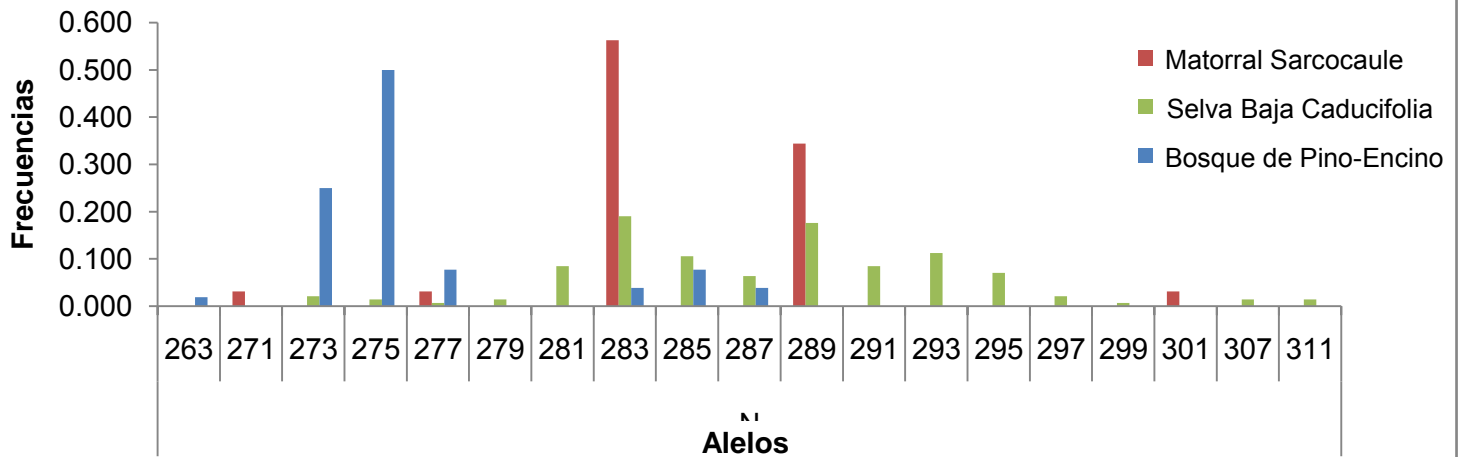
Locus Nm3



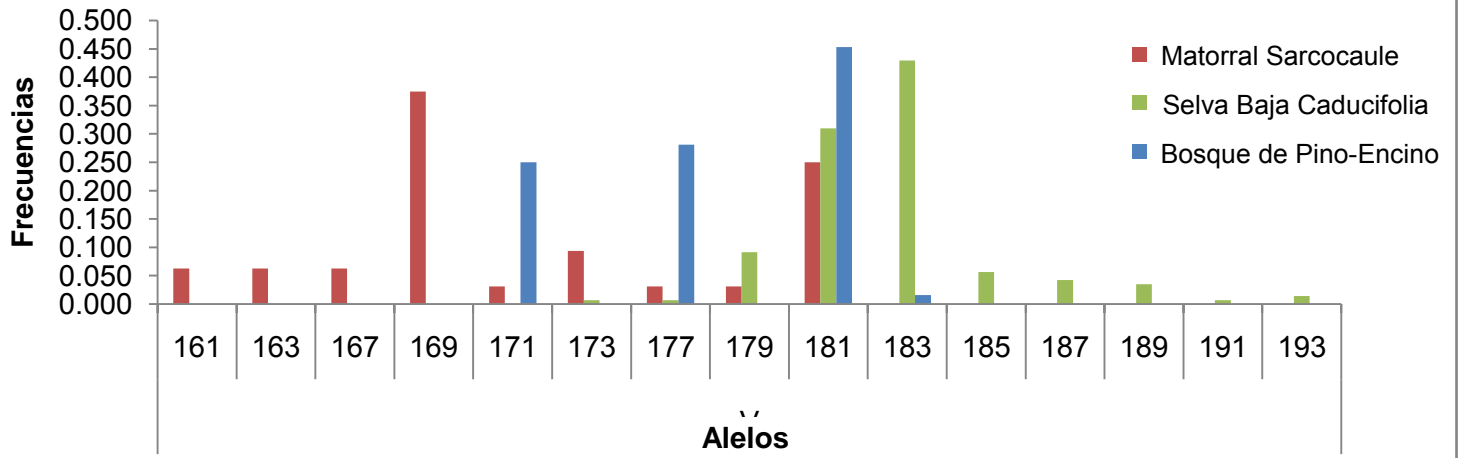
Locus Nm4



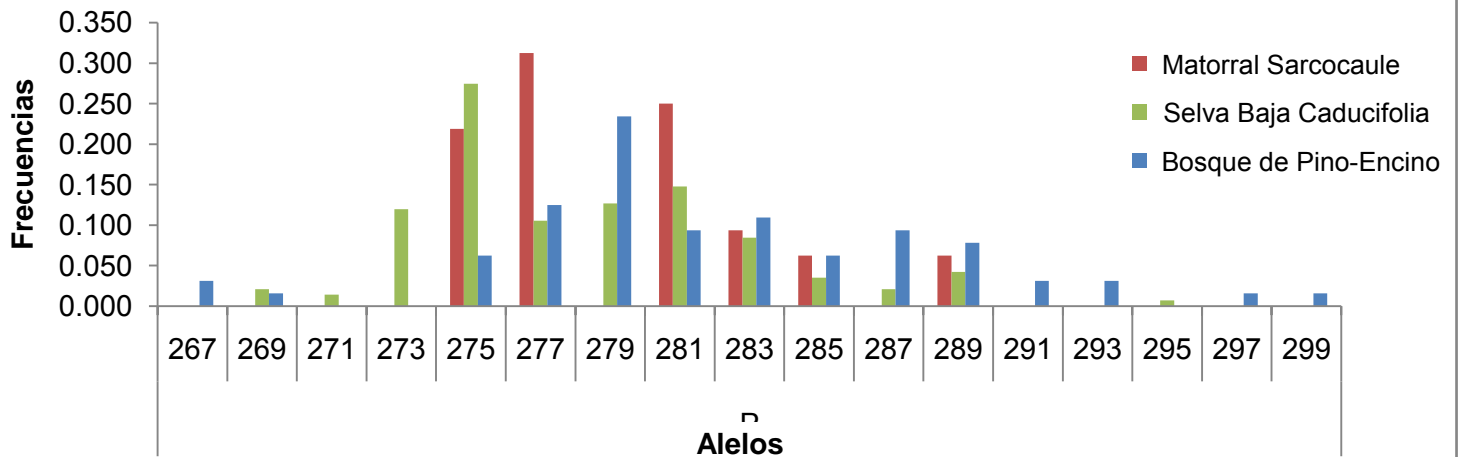
Locus Nm5

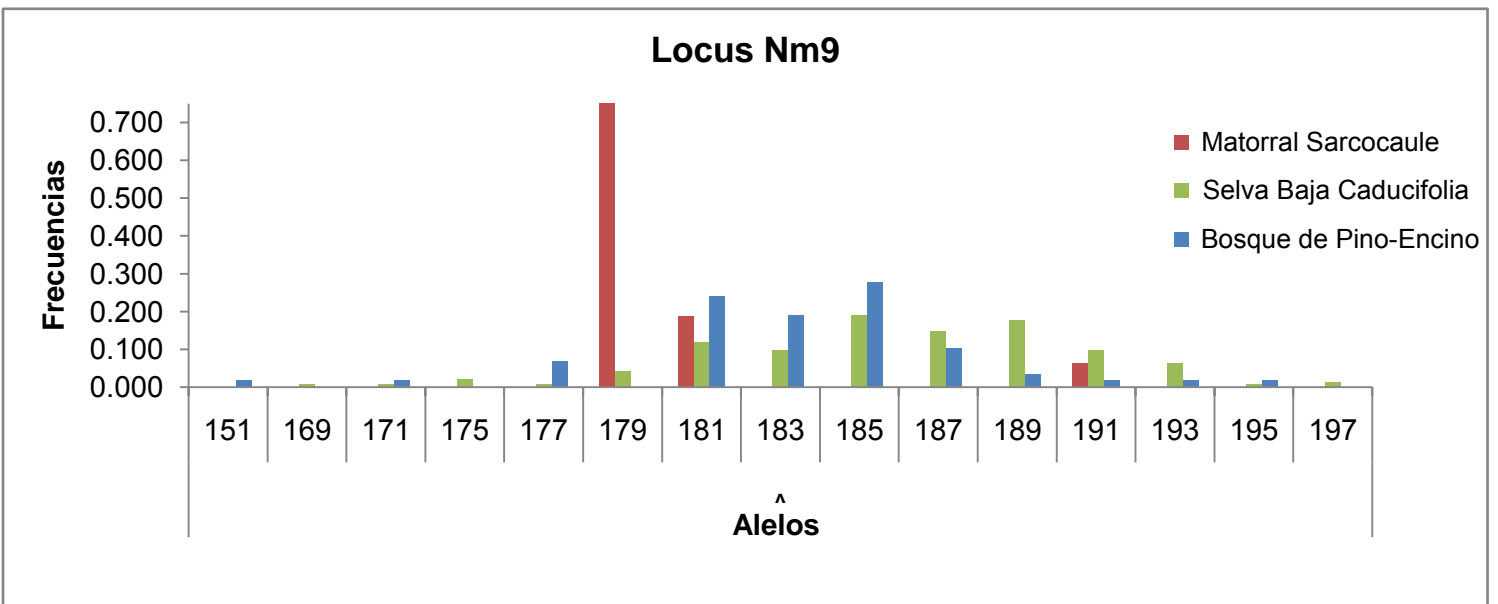
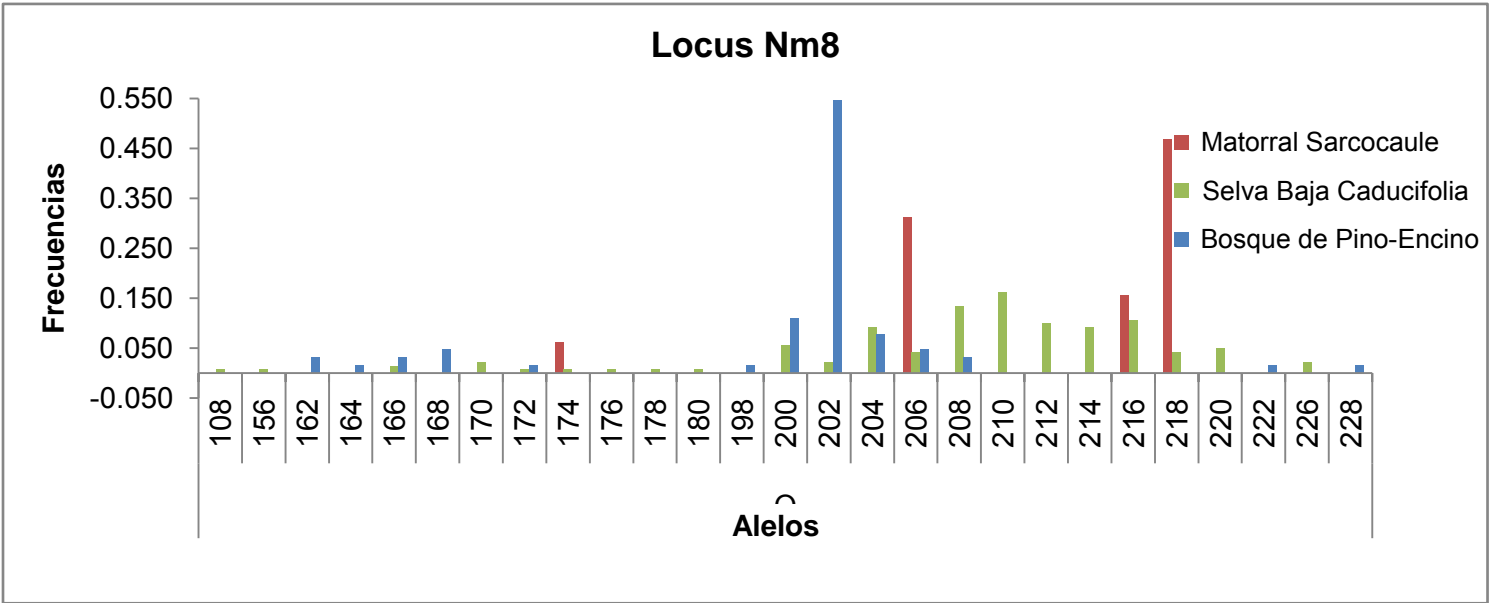


Locus Nm6



Locus Nm7





Locus Nm10

