

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“IDENTIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA  
DE LA POBLACIÓN INVERNANTE DEL PLAYERITO  
OCCIDENTAL (*Calidris mauri*) EN BAHÍA SANTA MARÍA,  
SINALOA, MÉXICO”**



**TESIS PROFESIONAL**  
que como requisito parcial  
para obtener el título de  
**BIÓLOGO**

Presenta  
**CARMEL VILANOVA**

Ensenada, Baja California

Septiembre del 2006

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

“IDENTIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN  
INVERNANTE DEL PLAYERITO OCCIDENTAL (*Calidris mauri*) EN  
BAHÍA SANTA MARÍA, SINALOA, MÉXICO”

TESIS PROFESIONAL QUE PRESENTA:


CARMEL VILANOVA

APROBADA POR:

  
DR. LUIS MANUEL ENRÍQUEZ PAREDES  
Presidente

  
DR. GORGONIO RUÍZ CAMPOS  
Secretario

  
M.C. JUANA CLAUDIA LEYVA AGUILERA  
1er. Vocal

  
DR. GUILLERMO JUAN FERNÁNDEZ ACEVES  
2do. Vocal

  
DR. FAUSTINO CAMARENA ROSALES  
3er. Vocal

A mi esposo y amigo

**Gustavo**

Gracias por tu amor, tu apoyo constante,  
tu comprensión, tus consejos,  
pero sobre todo por siempre  
estar junto a mi apoyandome  
en todo momento.

A mi hijo

**Matthieu**

Gracias por  
por tus sonrisas, tu alegría, tu amor y ternura.

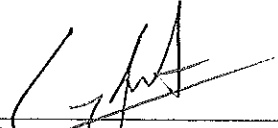
# Agradecimientos

- A mi director de tesis, Luis, fuiste un excelente asesor, muchísimas gracias por tu tiempo, tu paciencia, tu apoyo incondicional en el laboratorio y en la elaboración de la tesis, por compartir tus conocimientos, darme tus consejos y tu amistad. Te ganaste la medalla de honor francesa...
- A mi otro director de tesis, Dr. Guillermo Fernández, por sus revisiones a la tesis, sus valiosos consejos por correo electrónico y por proporcionarme las muestras sin las cuales no hubiera podido lograr este trabajo.
- Al Dr. Gorgonio Ruíz Campos por sus comentarios, recomendaciones y críticas, que mejoraron sustancialmente el escrito y permitieron la finalización de la tesis.
- Al Dr. Jorge de la Rosa por su interés en el trabajo y por todas las facilidades que me otorgó para desarrollar este trabajo de tesis en el Laboratorio de Ecología Molecular que está a su cargo.
- Al Dr. Faustino Camarena Rosales por facilitarme las instalaciones del Laboratorio de Biología Molecular y su oficina para realizar el trabajo de gabinete, así como por su ayuda en la realización de la tesis.
- A la M. C. Claudia Leyva por su buen humor y su ayuda en la elaboración del trabajo.
- A Alejandra Ramos y Rocío González por su apoyo en el laboratorio.
- A Gustavo por sus comentarios y consejos acerca del trabajo y por cuidar a nuestro chiquitín.
- A mis padres que, a pesar de la gran distancia geográfica, me apoyaron y motivaron por seguir adelante. Merci pour tes prières maman.
- A mis hermanas Claire y Lydia y hermanos Marc y Joseph por apoyarme y motivarme.
- Al Center for Wildlife Ecology, Simon Fraser University, Programa Latinoamericano del Canadian Wildlife Service y Patolandia Hunting Club por el apoyo financiero y logístico.

**Resumen de la Tesis de Carmel Vilanova presentada como requisito parcial para la obtención de la Licenciatura en Biología. IDENTIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN INVERNANTE DEL PLAYERITO OCCIDENTAL (*Calidris mauri*) EN BAHÍA SANTA MARÍA, SINALOA, MÉXICO. Ensenada Baja California, México. Septiembre del 2006.**

Resumen aprobado por:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes  
Director

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Guillermo Juan Fernández Aceves  
Co-director

## Resumen

El Playerito occidental *Calidris mauri* es una de las especies de aves playeras migratorias más común de Norteamérica, con una población mundial de 3–3.5 millones de individuos. Dada su abundancia y su distribución diferencial por clases de edad y sexo en las zonas de invernación, tanto temporal como espacialmente, la especie representa un excelente modelo para entender los factores que rigen la migración diferencial. Sin embargo, a pesar de que *C. mauri* se considera una especie focal para las estrategias de conservación a nivel local, prácticamente no existen estudios en los que se hayan empleado herramientas moleculares para explorar los aspectos ecológicos asociados con la migración. En el presente trabajo se estudió la identidad y estructura genética de la población invernante de *C. mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, que representa una de las zonas de mayor concentración de esta especie en México. Se extrajo el ADN genómico a partir de plumas recolectadas de forma semi-invasiva en 179 individuos para posteriormente amplificar y secuenciar un fragmento de 685 pares de bases correspondiente a la región control mitocondrial. Se identificaron 29 sitios variables que definieron un total de 41 haplotipos, uno de los cuales representó cerca del 40% de la población. Con base en los análisis filogenéticos se detectó la presencia de dos linajes maternos que exhibieron fidelidad interanual al sitio de invernación, en congruencia con lo observado en estudios previos de marcaje-recaptura. Además, los análisis de varianza molecular indicaron recurrentemente una segregación de uno de los grupos filogenéticos, especialmente en machos, hacia tipos de hábitat subóptimos. Aunque no se encontraron diferencias morfogenéticas entre los machos de ambos grupos filogenéticos, este tipo de distribución diferencial ha sido observada previamente en el área de estudio con base al uso de hábitat de individuos marcados. Este fenómeno deberá ser analizado más a fondo en estudios posteriores para establecer si realmente existe un componente genético denso-dependiente en el uso de hábitat. Finalmente, aun cuando la diversidad genética global resultó baja, esta es similar a la observada en otras especies del género *Calidris*. El elevado número de haplotipos encontrado en *C. mauri* y su estrecha relación filogenética sugieren un escenario de expansión demográfica reciente, producto de una historia evolutiva influenciada de manera importante por el último periodo glaciario; historia que aparentemente comparte con otras especies del género.

## Abstract

The Western Sandpiper *Calidris mauri* is one of the most common migratory shorebird species in North America, with a worldwide population of about 3–3.5 million individuals. Because of the abundance of Western Sandpiper and its differential distribution by age-classes and sex at the wintering grounds, both temporal and spatially, make this species an excellent model to understand the factors which rules the differential migration. Although the Western Sandpiper is considered as focal species to establish local conservation strategies, the numbers of studies based on molecular tools to explore the ecology of migration are limited. This project studied the genetic identity and population structure of Western Sandpipers wintering at Bahía Santa Maria, Sinaloa, which represents one of the largest concentrations of this species in Mexico. Genomic DNA was extracted from feathers collected by a semi-invasive sampling of 179 individuals to amplify and sequence a 685 base pair fragment of the mitochondrial control region. Twenty-nine variable sites were identified and defined 41 haplotypes, one of those representing around 40% of the population. Based on phylogenetic analysis, two groups of maternal lineages were identified that exhibited overwinter site fidelity, which is in agreement to mark-recapture studies. Moreover, the molecular variance analyses recurrently showed the segregation of one of the phylogenetic groups, especially males, into suboptimal habitats. Although there were not morphogenetic differences between males of each phylogenetic group, this segregation pattern has been previously reported at the study area based on the habitat use of banded individuals. This phenomenon needs to be further studied to establish if habitat use is density-dependent with a genetic basis. Finally, even though that the overall genetic diversity was low, it is similar to those observed in other species of the genus *Calidris*. The large number of haplotypes found in Western Sandpipers and their close phylogenetic relationship suggest a recent demographic expansion that could be related to an evolutionary history affected by the last glacial period; a history that seems to be shared by other species of the genus.

# Contenido

Agradecimientos.....	i
Resumen.....	ii
Abstract.....	iii
Contenido.....	iv
Lista de Figuras.....	v
Lista de Tablas .....	vii
Lista de Anexos .....	viii
Introducción .....	1
Antecedentes.....	5
Distribución .....	7
Migración.....	8
Sistemática.....	9
Morfología .....	9
El ADN mitocondrial como marcador molecular en el estudio de las poblaciones del género <i>Calidris</i> .....	11
<i>Calidris mauri</i> en la Bahía Santa María, Sinaloa, México.....	12
Hipótesis.....	14
Objetivos.....	15
General: .....	15
Particulares: .....	15
Área de Estudio.....	16
Material y Métodos.....	19
Trabajo de Campo .....	19
Trabajo de Laboratorio.....	20
Extracción del ADN genómico de las plumas (Método de sales-CTAB) .....	21
Evaluación de la calidad y cantidad de ADN .....	22
Amplificación de la región control mitocondrial .....	23
Secuenciación .....	25
Trabajo de Gabinete.....	26
Edición y comparación de las secuencias.....	26
Diversidad genética y análisis de varianza molecular .....	26
Resultados.....	31
Extracción, amplificación y secuenciación del ADN.....	31
Diversidad genética.....	33
Estructura genética poblacional.....	42
Demografía histórica y filogenia interespecifica .....	55
Discusión.....	60
Identidad y estructura genética poblacional en Bahía Santa María.....	60
Diversidad genética y demografía histórica .....	63
Consideraciones finales .....	76
Conclusiones.....	79
Literatura citada .....	80

# Lista de Figuras

Figura 1. Localización de las zonas de reproducción e invernación de <i>Calidris mauri</i> .....	6
Figura 2. Fotografía de <i>Calidris mauri</i> .....	10
Figura 3. Localización geográfica de Bahía Santa María.....	17
Figura 4. Topología del árbol filogenético de los haplotipos mitocondriales de <i>Calidris mauri</i> presentes en Bahía Santa María, Sinaloa, México.....	37
Figura 5. Árbol filogenético de mayor consenso para los haplotipos mitocondriales de <i>Calidris mauri</i> presentes en Bahía Santa María, Sinaloa, México.....	38
Figura 6. Red de la mínima separación para los haplotipos mitocondriales de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México.....	39
Figura 7. Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en los meses de enero y marzo.....	48
Figura 8. Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de los individuos machos de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en los meses de enero y marzo.....	49
Figura 9. Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en los tulares y las planicies lodosas.....	50
Figura 10. Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de los individuos machos de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en los tulares y las planicies lodosas.....	51
Figura 11. Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en las planicies lodosas y los manglares.....	52
Figura 12. Análisis de función discriminante de tipo morfogenético para machos y hembras de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México.....	54
Figura 13. Distribución de frecuencias del número de diferencias pareadas en <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México.....	55
Figura 14. Árbol filogenético interespecífico de mayor consenso del género <i>Calidris</i> .....	57
Figura 15. Distribución de frecuencia de las diferencias pareadas en <i>Calidris mauri</i> y <i>Calidris canutus</i> .....	67

Figura 16. Distribución de frecuencia de las diferencias pareadas en <i>Calidris fuscicollis</i> y <i>Calidris alpina</i> . .....	68
Figura 17. Red de la mínima separación para <i>Calidris mauri</i> y <i>Calidris canutus</i> . .....	69
Figura 18. Red de la mínima separación para <i>Calidris fuscicollis</i> y <i>Calidris alpina</i> .....	70
Figura 19. Distribución global de <i>Calidris mauri</i> y <i>Calidris canutu</i> . .....	71
Figura 20. Distribución global de <i>Calidris fuscicollis</i> y <i>Calidris alpina</i> . .....	72
Figura 21. Mapa de la región denominada Beringia. ....	73
Figura 22. Simulación de la tasa de encuentro de haplotipos nuevos usando diferentes tamaños de muestra. ....	77

# Lista de Tablas

Tabla I. Información resumida de las muestras de <i>Calidris mauri</i> empleadas en el análisis genético poblacional.....	19
Tabla II. Secuencia del haplotipo de la región control del ADN mitocondrial de <i>Calidris mauri</i> más frecuente en Bahía Santa María, Sinaloa, México. ....	32
Tabla III. Sitios variables y filogenéticamente informativos que definen los haplotipos mitocondriales de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México. ....	34
Tabla IV. Valores obtenidos por el ModelTest para la selección del modelo de sustitución nucleotídica de los haplotipos mitocondriales de <i>Calidris mauri</i> presentes en Bahía Santa María, Sinaloa, México. ....	35
Tabla V. Índices de diferenciación genética para los haplotipos mitocondriales de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México.....	42
Tabla VI. Índices de diferenciación genética de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México, que resultaron de los análisis de varianza molecular para las subdivisiones de la categoría de edad. ....	43
Tabla VII. Índices de diferenciación genética de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México, que resultaron de los análisis de varianza molecular para las subdivisiones de la categoría de hábitat. ....	44
Tabla VIII. Índices de diferenciación genética de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México que resultaron de los análisis de varianza molecular para las subdivisiones de la categoría de sexo.....	45
Tabla IX. Morfometría de los machos y las hembras de <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México asignadas a los grupos filogenéticos.....	53
Tabla X. Resumen del análisis de función discriminante morfogenético de realizado entre grupos filogenéticos y sexos para <i>Calidris mauri</i> en Bahía Santa María, Sinaloa, México.....	54
Tabla XI. Cuadro comparativo de los índices de diversidad genética y el tamaño poblacional en varias especies del género <i>Calidris</i> .....	63
Tabla XII. Historia demográfica molecular de algunas especies del género <i>Calidris</i> basada en los niveles de polimorfismo de la región control del ADNmt.....	74

## Lista de Anexos

Anexo 1. Secuencia y localización de los cebadores empleados para la amplificación de la región control mitocondrial de <i>Calidris mauri</i> .....	88
Anexo 2. Alineamiento de las secuencias de homólogas de la región control mitocondrial de <i>Calidris mauri</i> , <i>Calidris alpina</i> , <i>Calidris canutus</i> , <i>Calidris temminckii</i> y <i>Arenaria interpres</i> . ....	89
Anexo 3. Secuencias completas de los haplotipos de <i>C. mauri</i> presentes en Bahía Santa María, Sinaloa, México .....	92
Anexo 4. Índices de diversidad molecular para los grupos empleados en las comparaciones pareadas del análisis de varianza molecular.....	99
Anexo 5. Números de acceso al GeneBank de las secuencias empleadas en el análisis filogenético interespecífico.....	101

# Introducción

Dada su gran abundancia, las aves playeras migratorias son un elemento importante en el uso de los recursos costeros, y por lo tanto, indicadoras de la calidad del hábitat (Bildstein *et al.* 1991). A principios del siglo XX , las poblaciones de aves playeras fueron impactadas considerablemente debido a su uso cinegético (Myers *et al.* 1987). En las últimas décadas, los sitios que las aves playeras utilizan durante su ciclo anual han sido afectados por actividades antropogénicas (c.g. establecimiento de campos pesqueros, granjas acuícolas, infraestructura turística y otros tipos de asentamientos humanos) (Baker y Piersma 2000). Es posible que la pérdida y degradación del hábitat tenga un efecto negativo en el tamaño de las poblaciones de las aves playeras (Myers *et al.* 1987, Baker y Piersma 2000).

Las aves playeras utilizan durante su migración una serie de sitios de paso eslabonados entre sus zonas de reproducción, localizadas en altas latitudes, y aquellas donde pasan el invierno, localizadas en latitudes más bajas donde las condiciones son menos extremas (Myers *et al.* 1987). Los humedales constituyen uno de los principales sitios de descanso durante la migración de estas especies y se encuentran bajo constante amenaza de desarrollo (Dahl 1990, Helmers 1992). Aunque gran parte de los esfuerzos de conservación para el grupo de aves playeras se han dirigido a la protección de las zonas de reproducción y a las principales zonas de invernación, el deterioro o la desaparición de alguno los sitios de paso podrían tener un efecto negativo acumulativo, muy pronunciado para estas especies (Carvajal 2003, Fernández *et al.* 2006).

Al incrementarse la distancia entre las zonas de descanso, en las que los individuos recuperan energía para continuar la migración, la condición fisiológica sería subóptima y probablemente se reflejaría en una mayor mortalidad o un menor éxito reproductivo. A largo plazo, el resultado global sería la disminución de la abundancia de estas especies y por ende de la biodiversidad (Myers et al. 1987, Baker y Piersma 2000).

En la Cumbre de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo, celebrada en Río de Janeiro en 1992, se estableció la necesidad de estudiar los diferentes componentes de la diversidad biológica, así como el deterioro en los hábitat críticos para los mismos. Es por ello que durante los últimos años la conservación de subespecies y/o poblaciones locales ha tenido un gran auge; el hombre ha tomado conciencia de la necesidad de preservar aquellas unidades evolutivamente significativas (ESU<sup>1</sup>) como estrategia para reducir el deterioro ecológico y la consecuente pérdida de diversidad genética a largo plazo.

En muchas áreas de la biología de la conservación, el estudio de las poblaciones a través del análisis de marcadores genéticos ha proporcionado información muy valiosa para el esclarecimiento de divisiones biológicamente significativas en las poblaciones, así como para la evaluación de la salud genética y el establecimiento de medidas de manejo emergentes para las mismas (cf. Dizon et al. 1997). Los análisis genéticos moleculares que actualmente se emplean en estudios filogenéticos, filogeográficos y de estructura poblacional, también han encontrado aplicación en el estudio de la migración de las aves

---

<sup>1</sup> Una unidad evolutivamente significativa, ESU por sus siglas en inglés (Evolutionary Significant Unit), es un concepto que se emplea para la distinción de stocks en poblaciones amenazadas y esta basado en datos genéticos (p.e. diferenciación o divergencia genética). Las características que definen una ESU son: que las unidades están separadas o aisladas y son diferentes o únicas en términos de la identidad y variabilidad molecular de los individuos que la conforman.

(cf. Wink 2006). Estos métodos representan poderosas herramientas que complementan la información obtenida mediante anillamientos, telemetría, morfometría y el análisis de isótopos estables en estudios para determinar la conectividad entre áreas de invernación y de reproducción.

*Calidris mauri* es una de las aves playeras más abundantes que migran a lo largo del corredor del Pacífico (Morrison et al. 1998, Page et al. 1999) y ha sido considerada una especie focal en el establecimiento de estrategias locales de conservación (Myers 1981, Elner y Seaman 2003). A pesar de que *C. mauri* es una de las especies de aves playeras migratorias mejor estudiadas en Norteamérica, su ecología y los factores de selección que rigen el patrón de distribución geográfica a lo largo de su corredor migratorio no están muy claros todavía (Nebel et al. 2002) y no existen estudios sobre los niveles de diversidad y de estructura genética de la especie.

De acuerdo con Elner y Seaman (2003), *C. mauri* representa un excelente modelo para estudiar los patrones de distribución diferencial de los individuos durante la migración debido a que presenta un marcado dimorfismo sexual que conlleva a un uso diferente del habitat debido a las diferencias en la vulnerabilidad a la depredación y/o los métodos de alimentación (Burns y Ydenberg 2002, Mathot y Elner 2004). En las zonas de anidación se ha observado que los individuos tienden a distribuirse siguiendo un patrón que está asociado con cierta variación morfológica (Senner et al. 1981) y durante la migración a los sitios de invernada, los individuos más grandes tienden a viajar más al sur que los individuos más pequeños (O'Hara et al. 2006). Existe además una segregación latitudinal por sexo y edad durante el periodo migratorio: los machos pasan el invierno más al norte

que las hembras, y los juveniles se encuentran desproporcionadamente representados entre los límites norte y sur de la distribución invernal (Nebel et al. 2002).

Por lo anterior, este trabajo analiza la identidad genética de una de las agregaciones invernantes de *C. mauri* a través de los niveles de polimorfismo del ADNmt, lo que representa una primera aproximación al entendimiento de la estructura genética y la demografía de una especie migratoria muy abundante e indicadora de la calidad del hábitat costero. El presente estudio es parte integral del proyecto “Ecological and Social Factors Affecting the Local Habitat Distribution of Western Sanpipers Wintering at Bahía Santa María, Northwest México” que desarrolló el Dr. Guillermo Fernández-Aceves<sup>2</sup> del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Simon Fraser, Vancouver, Canadá. Por lo tanto, las muestras aquí se emplearon fueron recolectadas previamente con el objeto de incorporar al proyecto la información generada a partir del análisis de identidad y estructura genética

Los datos genéticos aquí generados, en conjunto con los obtenidos a partir de los estudios de individuos bandeados y su constante seguimiento, pretenden ampliar el conocimiento actual sobre los patrones de distribución interanual (p.e. fidelidad a los sitios de invernación) y la tendencia demográfica de esta especie.

---

<sup>2</sup> Dr. Guillermo Fernández-Aceves. ICMYL-UNAM-Mazatlán

## Antecedentes

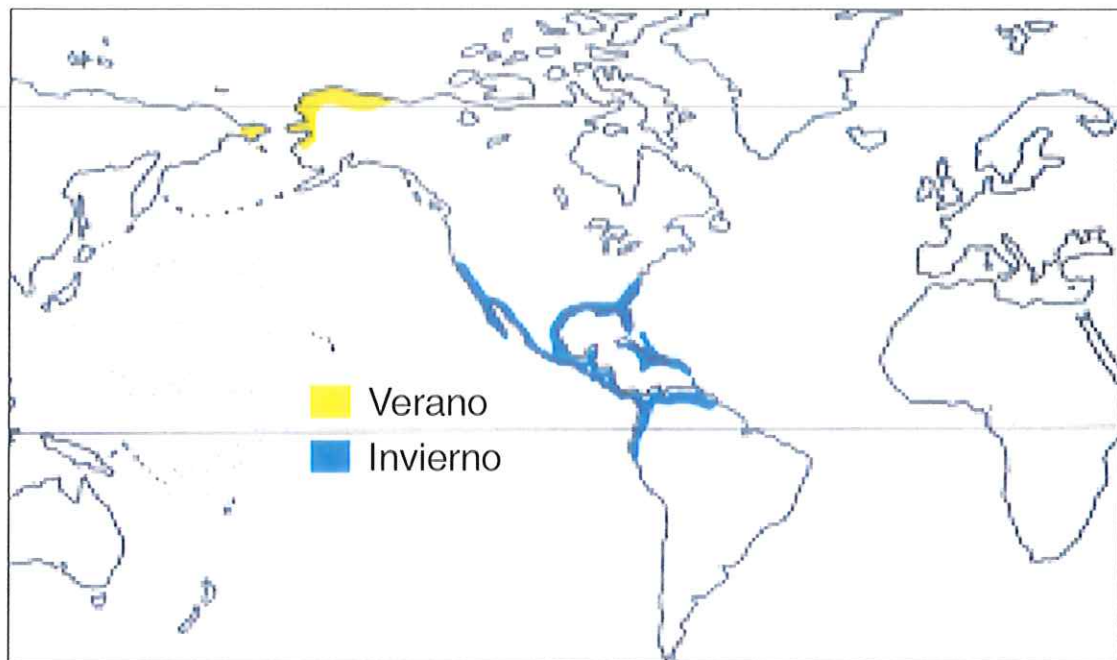
*C. mauri* es un ave playera migratoria Neártica que anida en la tundra de la costa occidental de Alaska y la porción sudoriental de Siberia (Fig. 1). A pesar de que el ámbito geográfico de reproducción de *C. mauri* es relativamente pequeño, es el ave playera migratoria más abundante en la costa oeste del continente americano (Paulson 1993, Wilson 1994), con una población global estimada entre 3 y 3.5 millones de individuos (Bishop et al. 2000, Morrison et al. 2001). Su migración ocurre principalmente a lo largo del Corredor Migratorio del Pacífico (Butler et al. 1996). En la costa del Océano Pacífico inverna en regiones de humedal costero desde el suroeste de EUA y hasta Sudamérica, en tanto que en la costa del Océano Atlántico lo hace desde el Golfo de México hasta Surinam (Morrison y Myers 1989, Paulson 1983).

La mayor parte de la información sobre la biología reproductiva de esta especie proviene de los estudios de carácter local realizados en el Delta Yukon-Kuskokwim (Holmes 1971, 1972, 1973) , Alaska (Sandercock 1998). Sin embargo, muy poco es lo que se sabe de la biología de invernación<sup>3</sup> de la especie, particularmente en aquellos individuos que invernan en el sureste de EE.UU , las Antillas, América Central y Sudamérica.

Los machos construyen un nido en el que, en promedio, alojan cuatro huevos. Tanto hembras como machos exhiben cuidados parentales, incubando y alimentando a los jóvenes hasta que estos puedan volar. La dieta de la especie es muy variada pero esta compuesta generalmente de larvas de insectos, pequeños crustáceos y poliquetos.

---

<sup>3</sup> La biología de invernación se refiere a todos los procesos fisiológicos del ave durante el periodo invernal



**Figura 1.** Localización de las zonas de reproducción e invernación de *Calidris mauri* (tomado de la página electrónica del Cornell Lab of Ornithology <http://www.birds.cornell.edu>).

## Distribución

### a) Continente Americano

- Zonas de reproducción: En Alaska, desde la boca del río Kuskokwim hasta los alrededores de Point Barrow (Connors *et al.* 1979) y de la Bahía Camden (Gabrielson y Lincoln 1959 fide Wilson 1994).
- Zonas de invernación: Principalmente en la costa del Pacífico de California hasta Perú (Hugues 1979, Duffy *et al.* 1981). Algunos individuos han sido observados pasando el invierno mucho más al norte, cerca de Washington (Widrig 1980). Es común ver algunos a lo largo de la costa Atlántica desde el sur de Nueva Jersey hasta la porción norte del Golfo de México, así como en el interior de Norteamérica, en Salton Sea. Asimismo se han observado localmente en el interior de México (al norte y en el centro del país), a lo largo de las costas del Caribe, en Centro América, Colombia y Venezuela (Fig. 1).

### b) Fuera del continente Americano

- Existe un pequeño grupo reproductivo en Siberia en la península de Chutotski (Kozlova 1962 citado en Wilson 1994). Extraordinariamente, esta especie ha sido observada en Irlanda, Gran Bretaña, Francia, España, Dinamarca y Suecia (Nisbet 1963). También, se recolectó un espécimen en Kultuk, Rusia, a la altura del Lago Baikal (Colston 1975).

### c) Histórica

- Existe evidencia fósil de que esta especie data al menos del pleistoceno tardío (hace unos 0.6 millones de años) en los depósitos de San Miguel, California, EE.UU. (Guthrie 1980); La Carolina, en Ecuador (Campbell et al. 1972); y Tlara Tar Seeps, en el Perú (Campbell 1979).

### Migración

Durante la migración, *C. mauri* se agrega en grandes y espectaculares parvadas, particularmente a lo largo de la costa del Océano Pacífico (Wilson 1994). Aunque durante el otoño la mayoría de los individuos de esta especie migran a lo largo de la costa Pacífico, un número importante se mueve hacia el interior de los EE.UU. alcanzando la costa del Océano Atlántico (Senner y Martinez 1982, Butler et al. 1996).

Una característica generalizada de la migración de esta especie es que los individuos permanecen durante el invierno en zonas sureñas, en condiciones menos extremas (Fig. 1). Los Playeros Occidentales vuelan a una velocidad promedio de viaje de 81 km/h y pueden migrar hasta 422 km al día a lo largo de la costa. Se detienen a descansar, comer y recuperar así su energía de 3 a 5 días en sitios de parada o descanso a lo largo de su recorrido (Butler et al. 1996).

Muchas de las planicies lodosas ubicadas a lo largo de la costa del Pacífico soportan un mayor número de individuos durante la primavera, sitios que también son ocupados

como zonas de descanso cuando migran con rumbo a Alaska (Butler et al. 1996, Warnock y Bishop 1998). Buena parte de las áreas de paso y de invernación se encuentran en los trópicos y subtropicos pero, aún pese a su gran importancia, estas áreas han sido poco estudiadas (Brabata y Carmona 1995). De igual forma, son escasos los estudios con respecto al comportamiento durante la migración y quedan todavía muchas interrogantes sobre los mecanismos que rigen los movimientos migratorios (Wilson 1994). No obstante, algunos autores afirman que existe una relativa fidelidad al sitio de invernación (Smith y Stiles 1979, Fernández et al. 2003).

### **Sistemática**

*Calidris mauri* pertenece al Orden Charadriiformes, Suborden Charadrii y Familia Scolopacidae. Existe una ligera variación en el tamaño del cúlmen para la población de Alaska y durante la época no-reproductiva (O'Hara et al. 2006).

### **Morfología**

*Calidris mauri* se distingue por ser una especie relativamente pequeña (14 a 17 cm. de envergadura, 35 a 37 cm. de longitud total y 22 a 35 g). Presenta una membrana pequeña en la base de los dedos (semipalmadas) y sus patas son de color negro. Durante el plumaje reproductivo, poseen una cabeza marrón claro con líneas longitudinales negras, cuya porción superior está cubierta de plumas negruzcas, con bordes blanquecinos y canela. Su garganta es de color blanco sucio. Las plumas del pecho, abdomen y región subcaudal son de color blanco con manchitas negras hacia los flancos. El pico es de color negro y ligeramente curvado en la punta (Fig. 2).

*C. mauri* presenta un marcado dimorfismo sexual (Jehl y Murray 1983), siendo las hembras 10% más pesadas y 15% más grandes que los machos. Dentro del grupo Calidrinini, *C. mauri* es la única especie cuyos sexos pueden ser distinguidos en el campo, ya que los machos tienen el pico más corto que las hembras (Paulson 1993).



Figura 2. Fotografía de *Calidris mauri* (tomada de la página electrónica de la Illinois Ornithological Society <http://www.illinoisbirds.org>)

## **El ADN mitocondrial como marcador molecular en el estudio de las poblaciones del género *Calidris*.**

La caracterización molecular basada en el ADN mitocondrial (ADNmt) se ha convertido en una técnica ampliamente utilizada en el estudio de la identidad poblacional, de la distribución diferencial entre individuos de una población y de la filogenia intra e interespecífica (Rochambeau et al. 2000). Debido a que el ADN mitocondrial (ADNmt) se hereda casi exclusivamente por vía materna (Rokas et al. 2003) y carece de recombinación, este ha sido el marcador molecular más empleado en el análisis de la estructura genética poblacional y la demografía histórica (Wilson et al. 1985, Avise et al. 1988). El ADN mt al ser una molécula con una rápida tasa evolutiva y con un tamaño poblacional efectivo menor al del ADN nuclear, facilita la detección de diferenciación a nivel local en las poblaciones (Ericsson et al. 2003, Paton y Baker. 2002, Wenink 1996.).

Diversos estudios han empleado el ADNmt en el análisis de la estructura poblacional y los patrones de migración del género *Calidris*. Wenink et al. (1994, 1996) establecieron los niveles de estructura genética y el patrón filogeográfico para *C. alpina* con base en los niveles de polimorfismo del ADN en el citocromo b y la región control. Usando también la región control mitocondrial se ha estudiado la conectividad entre las zonas de anidación y los destinos migratorios para *C. alpina* (Wennerberg 2001, Lopes et al. 2006) . En otros trabajos similares, el análisis de la región control del ADNmt ha esclarecido de los destinos migratorios y la estructura poblacional en *C. canutus* (Buehler y Baker 2003) y *C. fuscicollis* (Wennerberg et al. 2002). Más recientemente, Pruett y Winker (2005) exploraron la demografía histórica y plantean un posible

escenario para explicar los niveles de diferenciación genética en las poblaciones de *C. ptilocnemis* con base en las secuencias del citocromo b y la subunidad 2 de la NADH.

El presente estudio es el primero que analiza la variabilidad genética a nivel de la región control del ADNmt en *C. mauri*. A la fecha existen solo un par de estudios genéticos realizados en esta especie; en uno de ellos Haig et al. (1997) analizaron el nivel de diferenciación genética entre poblaciones invernantes de la costa este y oeste de EUA empleando la amplificación aleatoria de polimorfismos en el ADN (RAPDs), mientras que en otro trabajo Blomqvist et al. (2002) emplearon la genotipificación multigénica (multilocus DNA fingerprint) para explorar aspectos sobre la estrategia reproductiva evaluando los niveles de parentesco dentro de los nidos.

### ***Calidris mauri* en la Bahía Santa María, Sinaloa, México.**

De acuerdo con los estudios más recientes, entre 200,000 y 350,000 individuos de *C. mauri* pasan el invierno en Bahía Santa María (Engelis et al. 1998). Las observaciones de campo y el seguimiento de individuos anillados indican que los primeros individuos llegan en noviembre y los últimos en marzo, distribuyéndose ampliamente en los distintos tipos de hábitat que alberga la bahía, mostrando cierto grado de fidelidad interanual al sitio de invernación (Fernández-Aceves 2005).

En Bahía Santa María se reconocen tres tipos de hábitat que son utilizados por *C. mauri*: planicies lodosas, manglares y tulares, que pueden ser clasificados del más rico al más pobre en función del recurso alimenticio y del más seguro al más peligroso con respecto

al riesgo de depredación (Fernández-Aceves 2005). La estructura de la poblacional de *C. mauri* es diferente entre los tipos de hábitat. En las planicies lodosas, hábitat con mayor alimento y menor riesgo, la densidad de aves fue alta y los machos y adultos de cada sexo estuvieron sobre-representados. En los tulares, hábitat con aparente menor alimento y mayor riesgo, la densidad de aves fue baja y la proporción de sexos y edades en cada sexo fue similar. En los manglares la densidad de aves fue similar a la de tulares, pero la proporción de sexos y edades fue similar a la de planicies lodosas.

De acuerdo con Fernández-Aceves (2005), la distribución local puede ser explicada a procesos denso-dependientes. Los individuos en planicies lodosas que exhiben la mayor densidad de *C. mauri* en respuesta a la calidad del hábitat, presentan una mayor susceptibilidad a la interferencia. Con lo cual al incrementarse la densidad, ciertos individuos podrían verse desplazados hacia un hábitat subóptimo.

Por todo lo anterior, el presente trabajo se enfocó particularmente en el análisis de la identidad genética de los individuos invernantes en Bahía Santa María en la escala espacial y temporal, así como en función del sexo y la edad.

## Hipótesis

A pesar de que *C. mauri* se considera una especie monotípica, en la que los estudios de marcado-recaptura indican fidelidad a los sitios de invernación, se plantea la existencia de cierto grado de estructura genética en la población invernante de *C. mauri* en Bahía Santa María, asociada a la competencia intraespecífica y/o a la cronología migratoria diferencial por clases de edad y sexo.

Dado el tamaño estimado de la población global y la naturaleza migrante de *C. mauri*, se espera encontrar una variabilidad genética y una historia demográfica congruente con la de otras especies del género *Calidris* que anidan en la tundra del Pacífico Norte.

# Objetivos

## General:

Analizar la estructura genética de la población invernante de *Calidris mauri* en la Bahía Santa María, Sinaloa, México.

## Particulares:

- Determinar la identidad genética de los individuos de la población invernante de *C. mauri* en la Bahía Santa María.
  
- Establecer hasta que punto la población invernante de *C. mauri* en Bahía Santa María es genéticamente homogénea en la escala espacial y temporal.
  
- Incorporar la información filogenética al entendimiento de los patrones de migración y la historia demográfica de la población de *C. mauri*.
  
- Estimar el tamaño histórico de la población de *C. mauri* con base en los niveles de polimorfismo de ADN mitocondrial.

## Área de Estudio

El muestreo se realizó en la Bahía Santa María (25°02'N, 108°18'W), en la costa suroeste del Golfo de California, aproximadamente a 90 km al oeste de Culiacán, Sinaloa (Fig. 3). Bahía Santa María es el humedal más grande de la costa de Sinaloa puesto que tiene un área de 1,350 km<sup>2</sup>.

Bahía Santa María exhibe un mosaico de hábitat entre los que destacan principalmente las bahías abiertas, tulares, manglares y planicies lodosas (Fig.3). Aunque Bahía Santa María es extensa y variada en los tipos de hábitat, el manglar es el tipo de vegetación con mayor cobertura en la zona. Al estar directamente conectada al océano, toda la bahía está sujeta a los movimientos de marea. Las planicies lodosas, cuya extensión depende ampliamente del nivel de la marea, son el sitio idóneo para los playeritos occidentales (Fernández-Aceves 2005).

Alrededor de 795,000 aves playeras migratorias utilizan Bahía Santa María y Ensenada Pabellones como sitios de parada o invernación (Engilis et al. 1998). Esta cifra representa casi una tercera parte del total de aves migratorias de Norteamérica que usan el Corredor Migratorio del Pacífico e incluye a cerca del 20% de la población de *C. mauri* (Engilis et al. 1998). Es evidente el potencial biológico de la región y se justifica plenamente su importancia hemisférica para las aves playeras. Es por eso que Bahía Santa María ha sido designada como un Sitio de la Convención Ramsar y un Sitio de Importancia Hemisférica dentro de la Red Hemisférica de Reservas para Aves Playeras (RHRAP).

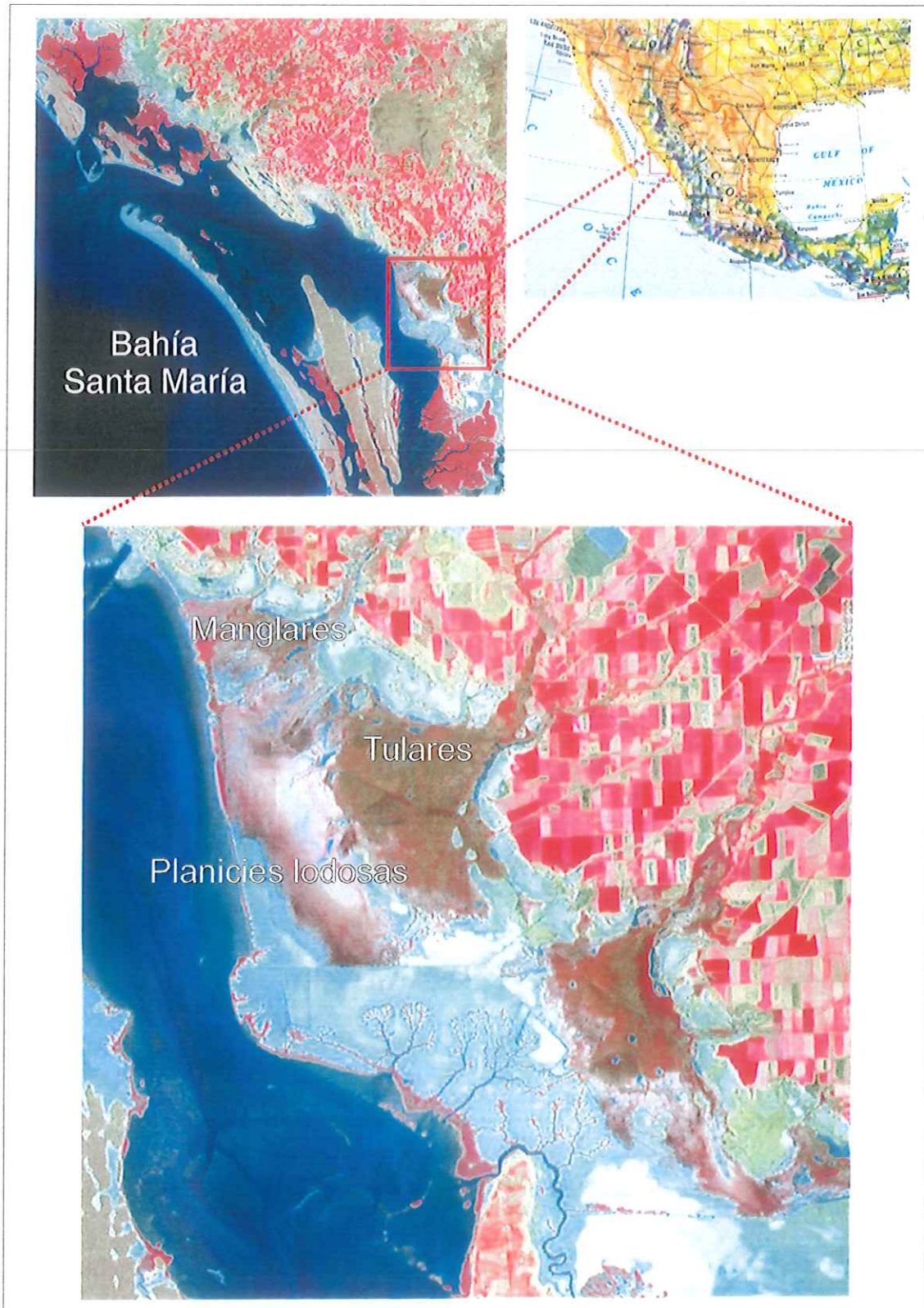


Figura 3. Localización geográfica de Bahía Santa María y detalle de la variedad y extensión de los tipos de hábitat que se presentan en la zona (modificado de Fernández-Aceves 2005).

A pesar de la importancia y del potencial biológico arriba mencionado, existen diversos factores que amenazan la zona. La zona presenta las condiciones características de un humedal continental, pero en las últimas décadas el creciente número de asentamientos humanos y la consecuente sobreexplotación de los recursos naturales de la zona han creado condiciones para la aparición de extensas áreas pantanosas (Carvajal 2003). Recientemente se han establecido un gran número de granjas acuícolas, muchas de ellas sin la autorización correspondiente de las autoridades, por lo que la destrucción de grandes extensiones de terrenos cercanos a los cuerpos de agua de la bahía se han visto afectados de manera negativa (Carvajal 2003). La construcción de canales de llamada para el llenado de los estanques ha impedido el flujo y reflujos de las mareas provocando con esto la muerte de mangles y de la vegetación halófila aledaña.

Por otra parte, la actividad agrícola también afecta de manera negativa los recursos de la bahía, ya que en ella se aplican diferentes tipos de agroquímicos y los excedentes se depositan en la bahía a través de las aguas residuales, promoviendo con ello la paulatina eutrofización de la zona. De continuar esta tendencia se corre el riesgo de un deterioro ecológico que impactaría severamente a la población de *C. mauri* al dejar un importante hueco en la cadena de sitios de invernación y de parada durante la migración (cf. Fernandez-Aceves 2005).

# Material y Métodos

## Trabajo de Campo

Las plumas de *Calidris mauri* fueron recolectadas por el Dr. Guillermo Fernández-Aceves y sus colaboradores durante las temporadas invernales de 1999-2000 y 2000-2001 en Bahía Santa María, Sinaloa, México (Tabla I, cf. Fig. 3). Algunas otras muestras provenientes del Estero Punta Banda, Baja California (recolectadas por el grupo del Dr. Horacio de la Cueva<sup>4</sup>) y de la Ensenada de La Paz, Baja California Sur (recolectadas por los M. en C. Roberto Carmona y Georgina Brabata<sup>5</sup>) fueron incluídas con fines comparativos.

Tabla I. Información resumida de las muestras de *Calidris mauri* empleadas en el análisis genético poblacional.

Localidad	Tipo de hábitat	Temporada	Hembras Adultas	Hembras Jóvenes	Machos Adultos	Machos Jóvenes	Indeterminados
ENS		1997	0	0	2	0	0
ENS		1999	3	0	0	0	0
LAP	PL	1998	0	0		0	1
BSM	G	1999	0	0	1	0	0
BSM	T	1999	2	2	3	2	0
ENS		2000	0	0	1	0	0
BSM	PL	2000	6	5	3	3	0
BSM	G	2000	4	6	10	6	0
BSM	T	2000	7	6	3	11	0
BSM		2000	5	0	4	0	0
ENS		2001	1	0	0	0	0
BSM	PL	2001	11	0	14	1	0
BSM	G	2001	23	0	22	3	0
BSM	T	2001	2	0	4	0	0
BSM		2001	0	2	0	0	0
ENS		2003	1	0	0	0	0
			65	21	67	26	1

\*Nota: ENS = Ensenada, B.C.; LAP = La Paz, B.C.S.; BMS = Bahía Santa María; PL = Planicie Lodosa; G = Manglar; T=Tular

<sup>4</sup> Dr. Horacio de la Cueva. CICESE-Ensenada

<sup>5</sup> M. en C. Roberto Carmona y M. en C. Georgina Brabata. UABCS-La Paz.

Los individuos fueron capturados en los sitios de alimentación o de descanso con ayuda de redes de niebla colocadas durante la pleamar. Una vez atrapadas en la red, las aves se retiraron cuidadosamente, se pesaron, midieron y se marcaron por medio de anillos plásticos y metálicos (cf. Fernández-Aceves 2005). Finalmente, antes de liberarlas, se tomaron varias plumas cobertoras del abdomen y una pluma secundaria de cada ala para el análisis genético. A cada ave capturada se le colocó una banda plástica de color naranja por arriba del anillo metálico que se emplea rutinariamente para marcarlos, con el objeto de facilitar su reconocimiento en las redes y evitar tomar plumas de un individuo ya incluido en la muestra genética.

Para el presente trabajo se contó con un total de 241 muestras entre las que se encuentran representantes de las diferentes clases de edad y sexo, así como de los diferentes tipos de hábitat presentes en el área de estudio. Los datos de campo con los que se contó para cada individuo fueron: la masa corporal determinada al 0.5 de gramo más cercano, la longitud del culmen (mm), del tarso y de la cuerda alar (cf. Fernández-Aceves 2005). Para diferenciar entre clases sexos se siguieron los criterios de Page y Fearis (1971) en los que plantean que aquellos individuos cuyo culmen mida más de 24.8 mm son hembras, mientras que en los machos este mide menos de 24.2 mm. Asimismo, los jóvenes (< 1 año) se distinguieron de los adultos por la coloración y desgaste de las plumas primarias, secundarias y terciarias (Page et al. 1972). Las redes fueron colocadas en diferentes tipos de hábitat para tener una muestra representativa de todos los individuos presentes en la bahía (cf. Fig. 1). Se determinaron tres tipos de hábitat: manglar, planicie lodosa y tular. Todos estos sitios son usados por *C. mauri* como áreas de descanso y alimentación (Fernández-Aceves 2005).

## Trabajo de Laboratorio

### Extracción del ADN genómico de las plumas (Método de sales-CTAB)

El método que se empleó para obtener el ADN genómico de las plumas consistió en la combinación de diversos protocolos estándar descritos por Hoelzel (1992). El ADN se obtuvo a partir de células epidérmicas de la porción basal de las plumas. En la mayoría de los individuos se empleó un par de plumas secundarias, aunque alternativamente se contó con plumaje cobertor de la región del abdomen.

Para cada individuo, la porción inferior del cañon de cada pluma fue cuidadosamente cortada y colocada en un tubo estéril debidamente etiquetado con el código asignado durante la captura. Se agregaron 175  $\mu$ l de la solución amortiguadora de extracción, compuesta de clorhidrato de tris-hidroximetil-aminometano (Tris-HCl) 200mM a pH 7.4, cloruro de sodio (NaCl) 250 mM, dodecil-lauril sulfato de sodio (SDS) al 0.5% y ácido etilen-diamino tetracético (EDTA) 25mM. Los fragmentos de pluma se maceraron contra las paredes del tubo con ayuda de pistilos plásticos estériles con el objeto de liberar y homogeneizar el tejido epidérmico blando contenido en la base del cañon. Este homogenizado se incubó a temperatura ambiente y en constante agitación por alrededor de 12 horas, permitiendo que se digiriera el tejido y se liberara el contenido celular. Posteriormente se agregaron 125  $\mu$ l de otra solución amortiguadora compuesta de Tris - HCl 200mM a pH 8, EDTA 20 mM, 2% de bromuro de hexadecil-trimetil amonio (CTAB), 0.1% de polivinilpirrolidona (PVPP), 0.1% de SDS y 0.2% de 2-mercaptoetanol ( $\beta$ -ME). Los tubos se agitaron vigorosamente durante algunos segundos y se incubaron a 65°C por 10 minutos con el objeto de eliminar polisacáridos y proteínas

grandes. Transcurrido este tiempo se adicionaron 300  $\mu$ l de cloruro de litio 5 M (LiCl) a cada muestra y se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente en constante agitación, con lo que se precipitan las proteínas y otras impurezas. Para eliminar los residuos de la digestión las muestras se centrifugaron durante 5 minutos a 8,000 G.

El sobrenadante se recuperó en otro tubo estéril y se purificó por centrifugación en un volumen de cloroformo-álcool isopentílico (24:1). De nueva cuenta se recuperó el sobrenadante y, finalmente, el ADN total se precipitó por centrifugación a 12,000 G en un volumen de isopropanol al 99% y se limpió con 500  $\mu$ l de etanol al 70%. El precipitado de ADN se secó a temperatura ambiente y se incubó a 37°C por 12 horas en 25  $\mu$ l de una nueva solución amortiguadora compuesta por Tris- HCl 1 mM y EDTA 0.1 mM para resuspender la muestra.

### **Evaluación de la calidad y cantidad de ADN**

La calidad y la concentración de las muestras de ADN total se evaluó por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 0.8 % conteniendo 0.05  $\mu$ g de bromuro de etidio (EtBr) por ml de gel. El tamaño y la integridad del ADN de cada muestra se estimaron comparando contra un marcador de peso molecular de concentración conocida. Cada muestra fué clasificada en función de la intensidad (cantidad) y el barrido (calidad) de la banda que aparece en el gel al visualizarlo en una mesa de luz ultravioleta. Finalmente, y en función de esta clasificación, las muestras fueron diluidas para obtener la concentración recomendada de 5 a 15 ng/  $\mu$ l para la amplificación (Hoezel 1992).

### Amplificación de la región control mitocondrial

Por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, leáse Mullis y Falona 1987), se amplificó un fragmento de aproximadamente 720 pares de bases (pb) que comprende la región hipervariable I y II de la región control del ADNmt reportada para otras especies del genero *Calidris* (Wenink et al. 1993, 1994, 1996, Wennerberg 2001; Buehler y Baker 2003, 2005).

Debido a que la región control del ADN mitocondrial de *Calidris mauri* no había sido reportada anteriormente, se diseñaron un par de cebadores a partir de la secuencia de la región control del ADNmt de *Calidris alpina* (GeneBank L20137; Wenink et al. 1994). Los cebadores fueron diseñados con ayuda de la paquetería PrimerSelect del programa WINSTAR. Los cebadores seleccionados flanquean una sección de 745 pb (correspondientes al sitio 37 y hasta el 782 de la secuencia L20137 antes mencionada; ver Anexo 1) que constituye alrededor del 70% de la región control mitocondrial: CmRCmtFa (5'-CCCCATACTACATAACCATC-3') y CmRCmtR (5'-GTCCCACAAGCATTTCATT-3').

Las reacciones de PCR se efectuaron en un volumen final de 27 µl de una solución amortiguadora Tris-HCl (pH 8.4) conteniendo cloruro de magnesio (MgCl<sub>2</sub>) 55 mM, mezcla de nucleótidos (dNTP's) 0.22mM y 0.35 U de la enzima *Taq* DNA polimerasa (todos los componentes de Invitrogen™) y 280 picomoles de cada cebador a partir de 5 - 15 ng de muestra de ADN genómico.

El perfil programado en el termociclador para la amplificación incluyó un ciclo de precalentamiento de 4 minutos a 94°C y 30 ciclos con las siguientes condiciones: 1 minuto de desnaturalización a 94°C, 45 segundos de reincorporación o acoplamiento de los cebadores a 53°C y 45 segundos de extensión de la cadena a 72°C. Por último, se adicionó un ciclo de 7 minutos de extensión final a 72°C.

La presencia y la concentración de los productos de amplificación por PCR fueron evaluadas por electroforesis en agarosa-EtBr usando una escalera de peso molecular de 500 pb. Aunque la incidencia de pseudogenes mitocondriales es menor en las aves que en otros grupos de animales (Kvist et al. 2003, Pereira y Baker 2004), previo al presente estudio se verificó que los productos de PCR obtenidos correspondían exclusivamente a la secuencia blanco del ADNmt seleccionada. Usando el par de cebadores antes mencionado, se realizaron amplificaciones independientes en ADN extraído directamente de las mitocondrias y de los núcleos, resultando negativas aquellas efectuadas sobre el ADN nuclear purificado (L. Enríquez<sup>6</sup>, datos no publicados). No existe entonces evidencia de que los cebadores empleados sean inespecíficos a la región control mitocondrial de *Calidris mauri* y de que se amplificaron o secuenciaron pseudogenes mitocondriales.

---

<sup>6</sup> Luis Enríquez. Laboratorio de Ecología Molecular. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California – Unidad Ensenada. Mediante la separación de organelos celulares, por centrifugación en un gradiente de sacarosa, se aislaron mitocondrias y núcleos a partir de tejido hepático de *C. mauri*. El ADN purificado de los núcleos fue amplificado por PCR empleando los cebadores diseñados para la región control mitocondrial y el resultado fue negativo (no se obtuvieron productos de amplificación).

Las amplificaciones exitosas fueron almacenadas para su posterior purificación y limpieza mientras que, por su parte, aquellas amplificaciones que resultaron negativas se procesaron de nueva cuenta incrementando la concentración de ADN en la reacción de PCR. Los productos de PCR se limpiaron empleando columnas de purificación Concert™ (Gibco-BRL Rapid PCR Purification System) siguiendo las especificaciones del fabricante y se evaluó su concentración final en un gel de agarosa-EtBr.

### Secuenciación

De los productos de amplificación purificados de cada individuo se separaron alicuotas con aproximadamente 200 ng de ADN mt, en dos tubos a los que se agregaron 28 picomoles del cebador correspondiente para efectuar, de manera independiente, la secuenciación de las cadenas ligera y pesada del fragmento de ADN. Las alicuotas debidamente etiquetadas se enviaron a Sequegene Inc.<sup>7</sup> en San Diego, California, EE.UU., donde se realizó la secuenciación de forma automatizada en un aparato ABI Prism 3100 (Automated Capillary DNA Sequencer).

---

<sup>7</sup> Sequegene Inc. 11526 Sorrento Valley Road. Suite B2. San Diego, CA, EUA. <http://www.sequegene.com>

## **Trabajo de Gabinete**

### **Edición y comparación de las secuencias**

Se analizaron los cromatogramas con la ayuda del programa Chromas Pro 1.15 que permite la lectura y edición de secuencias de ADN o proteínas. Este programa permite detectar rápidamente los sitios donde hay bases ambiguas al empatar las secuencias complementarias (secuenciadas independientemente con cada cebador). En aquellos casos en que la señal de uno de los cromatogramas complementarios sea clara y nítida, las bases ambiguas fueron corregidas manualmente con ayuda del programa. Una vez corregidas, cada una de las bases ambiguas se compararon las secuencias entre todos los individuos y con base en aquellas secuencias únicas se determinó el número de haplotipos mitocondriales.

### **Diversidad genética y análisis de varianza molecular**

Se calcularon los índices de diversidad molecular y se aplicaron pruebas estadísticas para determinar la identidad y la variabilidad genética de la población invernante de *Calidris mauri* en Bahía Santa María:

1. La diversidad haplotípica ( $H$ ) y su varianza asociada, que puede entenderse como la probabilidad de que los dos haplotipos elegidos al azar sean diferentes en una muestra, se calculó de acuerdo a Nei (1987) mediante el uso del programa Arlequin 2.0 (Schneider et al. 2000).

2. La diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) y su varianza se calcularon mediante los algoritmos de Tajima (1983) y Nei (1987) a través del programa Arlequin 2.0. La diversidad nucleotídica es la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos elegidos al azar sean diferentes entre dos secuencias (individuos) y es un índice equivalente a la diversidad haplotípica pero a nivel nucleotídico.
  
3. Con base en el programa ModelTest (Posada y Crandall 1998) se seleccionó el modelo de sustitución nucleotídica con el mejor ajuste para la diversidad genética observada. Posteriormente se usó el programa MEGA 3.0 (Kumar et al. 2004) para la construcción de árboles filogenéticos y el cálculo de las distancias genéticas.
  
4. Usando de nuevo el programa Arlequin 2.0, se efectuó un análisis molecular de varianza (AMOVA) para determinar la posible subdivisión de la población. Dicho análisis se aplicó con base en el índice de fijación de Wright ó F-estadístico ( $F_{ST}$ , Wright 1965) y su análogo,  $\Phi$ -estadístico ( $\Phi_{ST}$ , Excoffier et al. 1992). El índice  $F_{ST}$  calcula el grado de diferenciación entre grupos putativos de muestras considerando exclusivamente la frecuencia de los haplotipos en cada una de ellos (Wright 1965, Weir y Cockerman 1984), mientras que  $\Phi_{ST}$  incorpora además la información molecular (distancia genéticas). Para ello se seleccionaron diferentes criterios para agrupar las muestras con la finalidad de probar la estructura genética en la población a los siguientes niveles:

- a) Entre los diferentes años en los cuales se tomaron los muestreos. La comparación genética de las dos temporadas (1999-2000 y 2000-2001) en las cuales se efectuaron los muestreos permite determinar si existe una homogeneidad y una fidelidad al sitio de invernación.
  
- b) Entre tipos de hábitat (planicies lodosas, PL; manglares, G; y tulares, T) que podrá ser indicador de su uso y las preferencias en función de la calidad del mismo.
  
- c) Entre sexos (hembras, H; machos M) que podrá indicar si la migración diferencial tiene un efecto en la variabilidad genética.
  
- d) Entre edades (adultos, A; joven, J) para confirmar la fidelidad a la zona de invernación.
  
- e) Entre meses (enero, E; febrero, F; marzo, M) para poder identificar si la población varía a lo largo de la temporada de invernación e identificar posibles grupos migratorios.

5. El análisis de la demografía histórica se efectuó con base en tres pruebas que modelan la diversidad genética esperada bajo diferentes escenarios demográficos: el índice de rugosidad de Harpending (Rogers y Harpending 1992, Harpending 1994), y las pruebas de neutralidad selectiva de Tajima (1996) y de Fu (1996). Todas estas pruebas se realizaron a través del programa Arlequin 2.0. El índice de Harpending compara la distribución de frecuencias observada para el número de diferencias entre las secuencias de los individuos en la muestra, con aquella esperada en una población estacionaria y en equilibrio demográfico. En poblaciones estables este índice toma valores altos porque la distribución de frecuencias es típicamente multimodal y valores bajos en poblaciones en expansión demográfica cuya distribución de frecuencias es usualmente unimodal. Por su parte, las pruebas de neutralidad selectiva de Tajima y Fu evalúan el número de haplotipos esperados y observados en la muestra bajo el supuesto de neutralidad selectiva y equilibrio demográfico. Los índices de neutralidad toman valores negativos cuando en la muestra se observa un número mayor de haplotipos al que se esperaría si la población estuviera en equilibrio demográfico (estable y cercana a la capacidad de carga).
6. Finalmente, se realizó un ejercicio para estimar el tamaño efectivo poblacional histórico ( $N_e$ ), así como el tamaño total de la población ( $N$ ) con base en los niveles de polimorfismo del ADN mitocondrial. La relación estándar entre la diversidad genética de las secuencias de ADNmt matrilínealmente heredadas y el tamaño efectivo poblacional está dada por la siguiente ecuación:  $\theta = 2 N_e \mu$ ; donde  $\theta$  es un índice de diversidad genética  $N_e$  es el número de hembras reproductivamente

activas en la población, y  $\mu$  es la tasa de sustitución nucleotídica o de mutación por generación (Avice et al. 1988). Esta ecuación fue modificada por Enríquez-Paredes (2005) y Enríquez-Paredes et al. (2005) quienes, basados en el análisis filogenético de las secuencias, consideran que la topología y el número de linajes maternos son claras huellas demográficas de las poblaciones que permiten el cálculo del tamaño poblacional histórico. Ellos sugieren el siguiente modelo simplificado:  $Ne_{eff} = N_H T_D (T_G m)^{-1}$ , donde  $N_H$  es el número de haplotipos de una población,  $T_D$  el tiempo de divergencia estimado a partir de árbol filogenético,  $T_G$  es el tiempo generacional promedio y  $m$  el tamaño de la secuencia de ADN analizada. En términos simples, y bajo los supuestos de que el tamaño de muestra es representativo de la población y de que la población ha mantenido un tamaño promedio constante en el tiempo, este modelo modificado predice el tamaño histórico de la población que podría ser explicado por la diversidad genética observada en la muestra.

# Resultados

## Extracción, amplificación y secuenciación del ADN

De las 241 muestras de plumas de *C. mauri* que fueron procesadas para la extracción y purificación del ADN genómico, la cantidad y la calidad del mismo fue muy baja o nula en 62 individuos (26 %). En la mayoría de las muestras, a partir de la base del cañón de dos plumas terciarias (17-20 mg de tejido epidérmico) se obtuvieron entre 100 y 200 ng de ADN de alto peso molecular (sin degradación).

Los cebadores diseñados amplificaron un fragmento de 719 pb cuya secuencia fue contrastada con las de otros representantes del género *Calidris* disponibles en el GeneBank. La región control mitocondrial de *C. mauri* exhibió altos índices de similitud con las secuencias homólogas a *C. alpina* (94-96 %); *C. canutus* (92-93 %); y *C. temminckii* (89-92%). Como se mencionó anteriormente, varias muestras no presentaron una cantidad detectable de ADN, en todas ellas se realizó la amplificación por PCR. Se logró amplificar el fragmento blanco en 199 (83%) de las muestras, pero solamente se obtuvieron secuencias sin lecturas ambiguas en 179 de los individuos muestreados (74%).

Una vez editadas las secuencias, se removió la región de los cebadores con lo que el tamaño de la secuencia que se utilizó en análisis posteriores fue de 685 pb (Tabla II). Este fragmento de la región control mitocondrial incluye las dos regiones hipervariables y la región conservada previamente descritas en *C. alpina* (Wenink et al. 1994, ver Anexo 2).

Tabla II. Secuencia del haplotipo de la región control del ADN mitocondrial de *Calidris mauri* más frecuente en Bahía Santa María, Sinaloa, México.

GGGCTATACA	CC	TCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	[050]
AATGAACCTA	GGAATAT	TCA	CATACTACGT	ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	[100]
AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTTAACACA		[150]
CGCTATGAAT	GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCTT	GAAGTGCACA		[200]
CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT	GAAATCAGCA		[250]
ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTFACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC		[300]
CCCTAAACCC	TAGCACAAC	TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA		[350]
GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG		[400]
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC		[450]
TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG	GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC		[500]
CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC		[550]
GGCCTTATTT	TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TTCAAGTGTT		[600]
TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTACACT	TGGTTATGGC		[650]
CTCCCCGCAA	GCAGCGTCA	TGCCACTGTT	TAATG			[685]

La secuencia se reporta en dirección 5'-3' y su homología con respecto a las secuencias de otras especies puede apreciarse en el Anexo 3. Entre corchetes se indica la posición nucleotídica al final de cada línea

## Diversidad genética

En las secuencias del ADN mitocondrial de *C. mauri* se detectaron 29 sitios variables que permitieron definir 41 haplotipos que difieren hasta en siete sitios. Solo 14 de los 29 sitios variables, resultaron filogenéticamente informativos (Tabla III). Las secuencias completas de cada uno de los haplotipos se especifican en el Anexo 3.

La composición nucleotídica promedio de las secuencias fue heterogénea: C = 19.08%; T = 25.30%; A = 29.36%; G = 26.37%. Todos los sitios variables correspondieron a sustituciones nucleotídicas: 23 transiciones (11 C↔T, 12 G↔A) y 6 transversiones (1 T↔A, 2 A↔C, 3 G↔T). La composición nucleotídica de la secuencia analizada fue heterogénea, ligeramente sesgada hacia las purinas (19.08% C, 25.30% T, 29.36% A y 26.27% G).

Los 29 sitios variables representan tan solo el 4.2% del total de sitios en la secuencia, es decir una variabilidad reducida. El número promedio de diferencias entre todos los pares de secuencias fue de 1.98 (S.E. = 1.12), lo que alternativamente puede expresarse como una diversidad nucleotídica de 0.0029 (S.E. = 0.0018).

La diversidad haplotípica promedio fue 0.790 (S.E. = 0.032). El haplotipo más común (CmHap01) se encontró en 81 individuos, lo que representa el 45% de los ejemplares muestreados en Bahía Santa María. Los demás haplotipos ocurrieron en proporciones menores y de manera más homogénea (Tabla III).

Tabla III. Sitios variables y filogenéticamente informativos (sombreados) que definen los haplotipos mitocondriales de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México.

Haplotipo	f	n	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	6	6	6	6	6	6	6	6	7	7	8	8	8			
			4	5	5	5	6	7	7	7	0	0	1	4	4	9	0	2	4	4	6	6	7	7	9	9	1	6	0	0	1		
			1	1	4	8	6	0	1	4	0	3	9	1	2	8	3	2	1	7	1	4	0	9	3	8	9	6	0	3	2		
CmHap01	0.45	81	C	C	C	C	A	A	T	A	T	T	C	A	C	G	C	A	A	T	G	C	A	G	T	C	G	T	G	C	G		
CmHap02	0.04	7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap03	0.03	5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap04	0.03	5	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	
CmHap05	0.03	5	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	A	.	
CmHap06	0.03	5	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap07	0.02	4	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap08	0.02	4	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	
CmHap09	0.02	4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	
CmHap10	0.02	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap11	0.02	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap12	0.02	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	
CmHap13	0.02	3	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	
CmHap14	0.02	3	.	T	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap15	0.02	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	
CmHap16	0.02	3	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	T	.	.	.	
CmHap17	0.02	3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.
CmHap18	0.01	2	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	
CmHap19	0.01	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap20	0.01	2	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap21	0.01	2	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.	
CmHap22	0.01	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	G	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.		
CmHap23	0.01	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	T	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap24	0.01	2	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap25	0.01	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap26	0.01	2	.	.	.	.	.	.	C	.	.	G	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap27	0.01	2	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	
CmHap28	0.01	2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap29	0.01	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap30	0.01	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap31	0.01	1	.	A	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	
CmHap32	0.01	1	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap33	0.01	1	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap34	0.01	1	T	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap35	0.01	1	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap36	0.01	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap37	0.01	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap38	0.01	1	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	
CmHap39	0.01	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap40	0.01	1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	
CmHap41	0.01	1	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	

\* Nota : Se indica la frecuencia relativa de cada haplotipo (f) y la frecuencia absoluta de individuos con dicho haplotipo. La asignación numérica para los sitios corresponde a la posición nucleotídica de la secuencia de *Calidris alpina* reportada en Wenink et al. (1994). De esta forma, la primera posición en la secuencia de *C. mauri*, corresponde a la posición 85 de la secuencia de *C. alpina* (ver Anexo 2).

## Filogenia intraespecífica

Los modelos de sustitución nucleotídica que explicaron de mejor manera el polimorfismo observado en la porción de la región control mitocondrial de *C. mauri* fueron el de Tamura-Nei con corrección Gamma (TrN+G), con base en el criterio de información de Akaike (AIC), y el modelo generalizado de tiempo reversible (GTR+G) con corrección Gamma (GTR+G), apegándose al criterio jerárquico de verosimilitud (lnL). De acuerdo con Posada y Buckley (2004), el AIC es un criterio mucho más adecuado en la evaluación de múltiples modelos al explorar el nivel de incertidumbre de cada modelo considerado. Por esta razón los análisis filogenéticos se efectuaron con base en el modelo de Tamura-Nei con corrección Gamma ( $\alpha = 0.04$ ; 4 categorías con igual frecuencia y con tasas de 0.000, 0.000, 0.001 y 3.99 respectivamente), de acuerdo con los resultados del programa ModelTest (Tabla IV).

**Tabla IV.** Valores obtenidos por el ModelTest para la selección del modelo de sustitución nucleotídica de los haplotipos mitocondriales de *Calidris mauri* presentes en Bahía Santa María, Sinaloa, México.

Modelo de Sustitución Nucleotídica*	Criterio de Akaike AIC	Mayor Verosimilitud lnL
JC	2635.62	-1317.81
F81	2623.99	-1308.99
JC+G	2602.02	-1300.01
K80	2591.05	-1294.53
F81+G	2590.39	-1291.19
HKY	2580.30	-1286.15
GTR	2579.97	-1281.98
TrN	2579.09	-1284.54
K80+G	2557.44	-1276.72
HKY+G	2546.46	-1268.23
GTR+G	2546.12	-1264.06
TrN+G	2545.23	-1266.66

\* JC+G (Jukes-Cantor plus Gamma), F81 (Felsenstein 1981), F81+G (Felsenstein 1981 plus Gamma), K80 (Kimura 2-parameter), K80+G (Kimura 2-parameter plus Gamma), HKY (Hasegawa-Kishino-Yano), HKY+G (Hasegawa-Kishino-Yano plus Gamma), TrN (Tamura-Nei), TrN+G (Tamura-Nei plus Gamma), GTR (General Time Reversible), GTR+G (General Time Reversible plus Gamma).

Debido a que el tamaño de la secuencia (685 pb) y el número de muestras (179 individuos) son relativamente grandes, se decidió emplear el método de mínima evolución (ME: Minimum Evolution) y el del vecino más cercano (NJ: Neighbor Joining) para la construcción del árbol filogenético (cf. Nei *et al.* 1998, Nei and Kumar 2000).

La topología del árbol filogenético resultante (Fig. 4) sugiere la presencia de dos grandes grupos: el *Grupo A* que incluyó al haplotipo más común, CmHap01, y a sus derivados inmediatos, y el *Grupo B* formado por los haplotipos CmHap09, CmHap10, CmHap12, CmHap15, CmHap21, CmHap22, CmHap23, CmHap24, CmHap25, CmHap26, CmHap28, CmHap35, CmHap36 y CmHap37. Sin embargo, es importante hacer notar que la robustez de las agrupaciones fue muy baja, como puede apreciarse en los valores de sustento de las ramas en el árbol consenso generado con base en 1000 remuestreos (Fig. 5). De acuerdo con Nei y Kumar (2000) esta baja resolución en la topología es producto de un bajo número de sitios parsimoniosamente informativos que, si bien es reflejo de una reducida diversidad genética intraespecífica, no compromete la confiabilidad de las relaciones entre los distintos haplotipos.

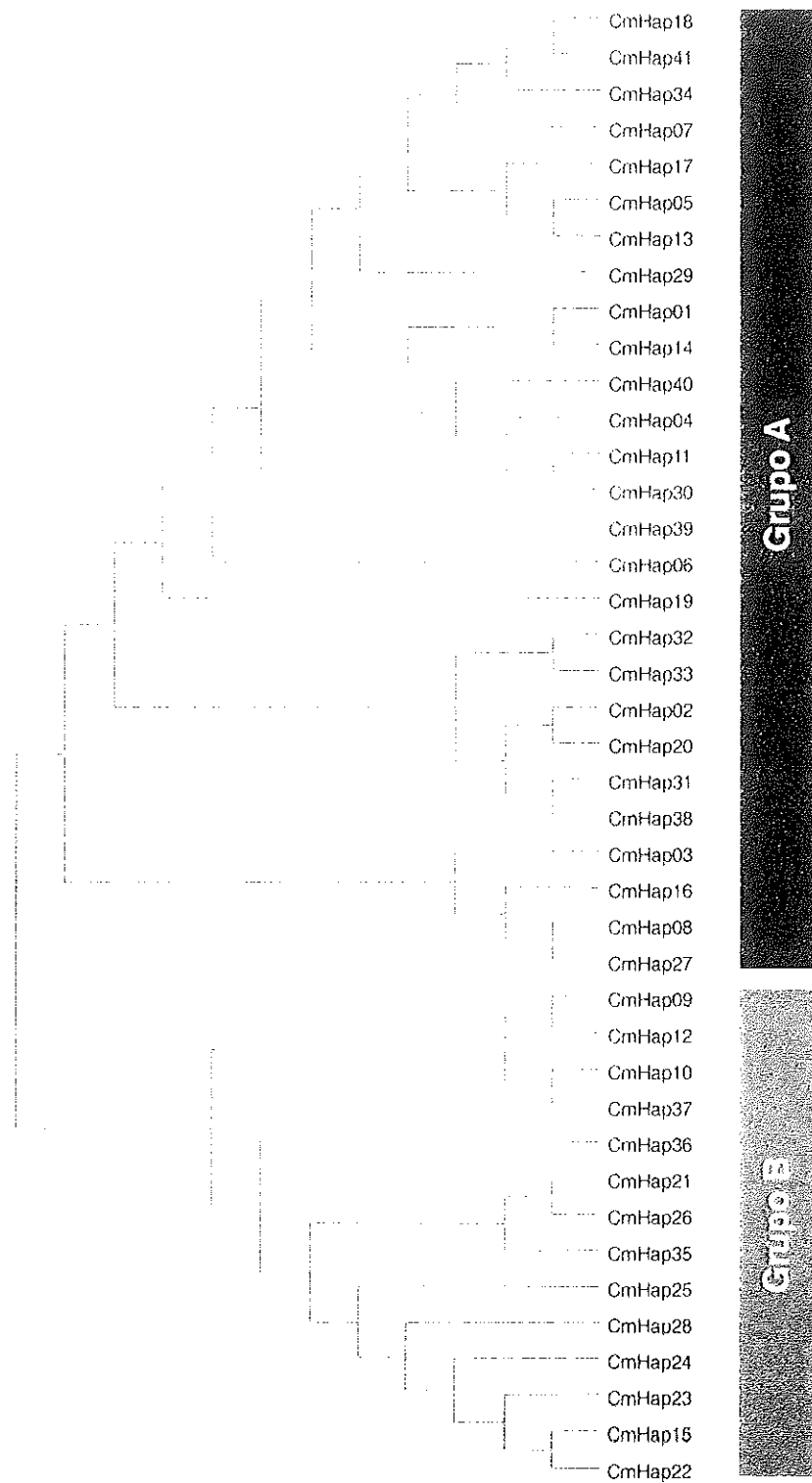
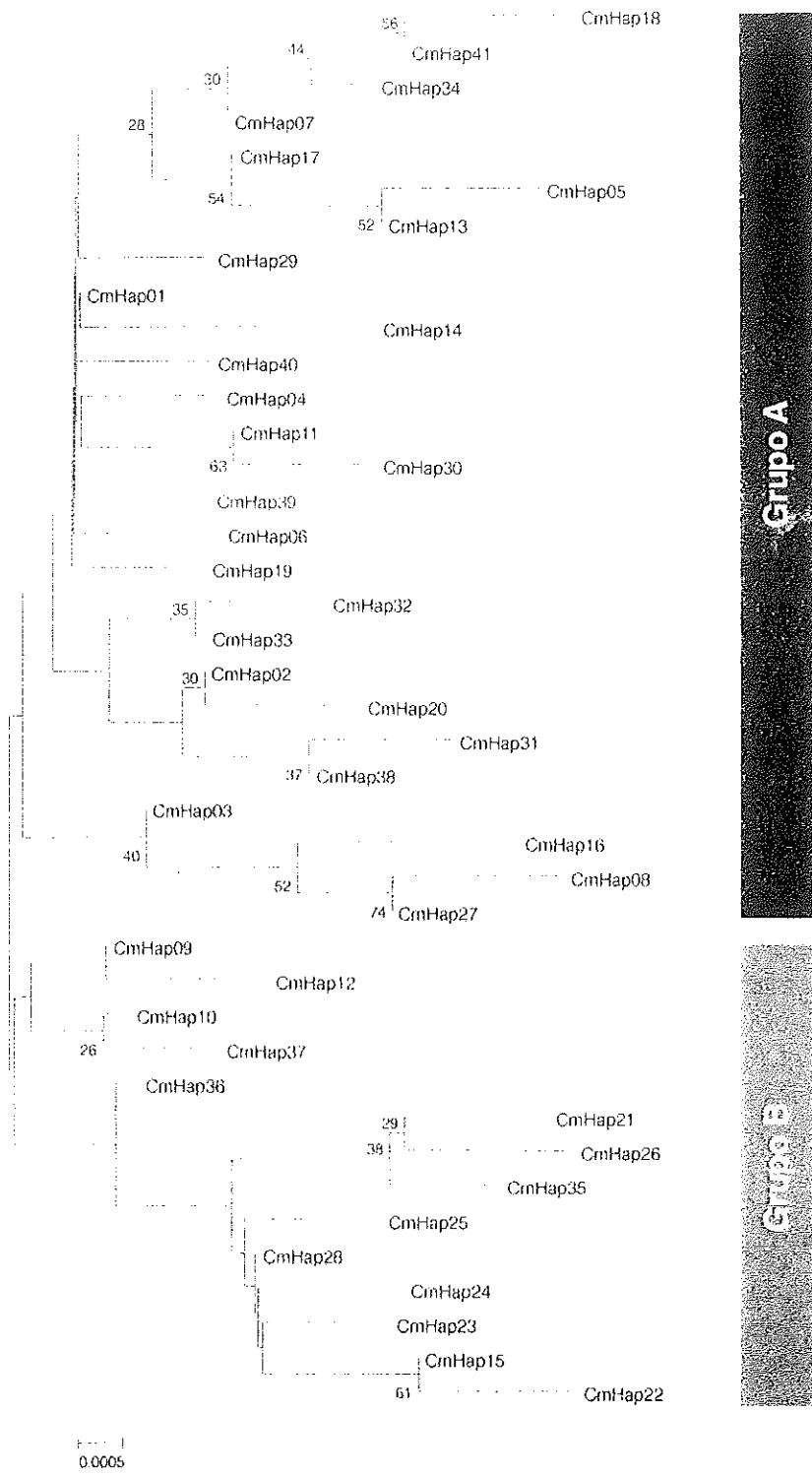


Figura 4. Topología del árbol filogenético de los haplotipos mitocondriales de *Calidris mauri* presentes en Bahía Santa María, Sinaloa, México. El árbol fue construido con base al método NJ usando los valores de distancia genética de Tamura-Nei con corrección Gamma ( $\alpha = 0.04$ ). Las barras en tonos de gris delimitan los dos grandes grupos sugeridos por la topología.



**Figura 5.** Árbol filogenético de mayor consenso (1000 remuestreos por bootstrap) para los haplotipos mitocondriales de *Calidris mauri* presentes en Bahía Santa María, Sinaloa, México. El árbol fue construido con base al método ME usando los valores de distancia genética de Tamura-Nei con corrección Gamma ( $\alpha = 0.04$ ). Las barras en tonos de gris delimitan los dos grandes grupos sugeridos por la topología. Los números al lado de los nodos indican los valores de sustento de las ramas (solo se presentan los valores mayores al 25%)

Del análisis filogenético intraespecífico se evidencia que el haplotipo más común (CmHap01) tiene una posición basal en el árbol consenso (Fig. 5) y que ocupa una posición central en la arquitectura radiada de la MSN (Fig. 6) por lo que puede considerarse el haplotipo ancestral. Asimismo, la presencia de más de dos ramificaciones para CmHap09 y para CmHap28, cuya posición dentro del MSN está polarizada, sustenta la aparente existencia de un grupo distinto al formado por CmHap01 y sus derivados inmediatos.

Debido a que el tamaño de la secuencia (685 pb) y el número de muestras (179 individuos) son relativamente grandes, se decidió emplear el método de mínima evolución (ME: Minimum Evolution) y el del vecino más cercano (NJ: Neighbor Joining) para la construcción del árbol filogenético (cf. Nei *et al.* 1998, Nei and Kumar 2000).

La topología del árbol filogenético resultante (Fig. 4) sugiere la presencia de dos grandes grupos: el *Grupo A* que incluyó al haplotipo más común, CmHap01, y a sus derivados inmediatos, y el *Grupo B* formado por los haplotipos CmHap09, CmHap10, CmHap12, CmHap15, CmHap21, CmHap22, CmHap23, CmHap24, CmHap25, CmHap26, CmHap28, CmHap35, CmHap36 y CmHap37. Sin embargo, es importante hacer notar que la robustez de las agrupaciones fue muy baja, como puede apreciarse en los valores de sustento de las ramas en el árbol consenso generado con base en 1000 remuestreos (Fig. 5). Sin embargo, de acuerdo con Nei y Kumar (2000) esta baja resolución en la topología es producto de un bajo número de sitios parsimoniosamente informativos que,

si bien es reflejo de una reducida diversidad genética intraespecífica, no compromete la confiabilidad de las relaciones entre los distintos haplotipos.

Por otra parte, en la arquitectura de la red de la mínima separación (MSN: Minimum Spanning Network) resaltó también la presencia de dos grupos (Fig. 6), prácticamente formados por los mismos haplotipos que en los grupos antes mencionados. En terminos generales, un patrón radiado y sin una marcada polarización del MSN sugiere un evento de expansión poblacional reciente.

Del análisis filogenético intraespecífico se evidencia que el haplotipo más común (CmHap01) tiene una posición basal en el árbol consenso (Fig. 5) y que ocupa una posición central en la arquitectura radiada de la MSN (Fig. 6) por lo que puede considerarse el haplotipo ancestral. Asimismo, la presencia de más de dos ramificaciones para CmHap09 y para CmHap28, cuya posición dentro del MSN está polarizada, sustenta la aparente existencia de un grupo distinto al formado por CmHap01 y sus derivados inmediatos.

## Estructura genética poblacional

Los resultados de los análisis moleculares de varianza para cada una de las categorías consideradas se resumen en las Tablas V, VI, VII y VIII. Los estimadores de diversidad genética y los tamaños de muestra para cada uno de los grupos considerados en las comparaciones se detallan en el Anexo 4.

Tabla V. Índices de diferenciación genética para los haplotipos mitocondriales de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México.

Grupos <sup>a</sup>	$F_{ST}$	$p$	$\Phi_{ST}$	$p$
Temporada 2000 - 2001	0.0091	>0.05	0.0072	>0.05
Sexo M - H	-0.0003	>0.05	0.0000	>0.05
Meses	-0.0037	>0.05	0.0210*	0.02*
e - f	-0.0016	>0.05	0.0108	>0.05
e - m	-0.0042	>0.05	0.0368*	0.01*
f - m	-0.0096	>0.05	0.0147	>0.05
Edad A-J	-0.0053	>0.05	0.0027	>0.05
Habitat	0.0032	>0.05	0.0144*	0.04*
T - PL	-0.0098	>0.05	0.0208*	0.04*
T - G	0.0073	>0.05	-0.0062	>0.05
PL - G	0.0057	>0.05	0.0310	>0.05

\* Valores significativos considerando un nivel de significancia de 0.05.

<sup>a</sup> Las categorías esta representadas por temporadas 2000 (diciembre 1999 y enero-marzo 2000) y 2001; por sexo machos (M) y hembras (H); por edad adultos (A) y jóvenes (J), por hábitat tulares (T), planicies lodosas (PL) y manglares (G); por meses enero (e), febrero (f) y marzo (m).

**Tabla VI.** Índices de diferenciación genética de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México, que resultaron de los análisis de varianza molecular para las subdivisiones de la categoría de edad.

Grupos	$F_{ST}$	$p$	$\Phi_{ST}$	$p$
<b>Edad - Habitat</b>	-0.0018	>0.05	0.0104	>0.05
GA - MJ	-0.0210	>0.05	0.0594	>0.05
GA - PLJ	0.0106	>0.05	0.0370*	0.01*
GA - TA	-0.0210	>0.05	0.0025	>0.05
GA - TJ	-0.0055	>0.05	-0.0037	>0.05
GJ - PLA	0.0229	>0.05	-0.0078	>0.05
GJ - PLJ	-0.0107	>0.05	0.0017	>0.05
GJ - TA	-0.4320	>0.05	-0.0425	>0.05
GJ - TA	-0.0203	>0.05	0.0044	>0.05
GJ - TJ	-0.0015	>0.05	-0.0027	>0.05
PLA - PLJ	0.0021	>0.05	0.0166	>0.05
PLA - TA	-0.0052	>0.05	0.0283	>0.05
PLA - TJ	-0.0138	>0.05	-0.0089	>0.05
PLJ - TA	-0.0119	>0.05	0.0522	>0.05
PLJ - TJ	0.0242	>0.05	-0.0011	>0.05
TJ - TA	0.0059	>0.05	-0.0032	>0.05
<b>Edad - Temporada</b>	0.0003	>0.05	0.0070	>0.05
2000A - 2001A	0.0087	>0.05	0.0129	>0.05
2000A - 2000J	-0.0123	>0.05	-0.0087	>0.05
2000A - 2001J	0.0400	>0.05	0.0570	>0.05
2001A - 2000J	0.0027	>0.05	0.0042	>0.05
2001A - 2001J	-0.0319	>0.05	0.0134	>0.05
2000J - 2001J	-0.0140	>0.05	-0.0095	>0.05
<b>Edad - Sexo</b>	-0.0046	>0.05	-0.0004	>0.05
HA - HJ	-0.0029	>0.05	0.0213	>0.05
HA - MA	-0.0056	>0.05	-0.0098	>0.05
HA - MJ	-0.0017	>0.05	-0.0078	>0.05
HJ - MA	0.0005	>0.05	0.0192	>0.05
HJ - MJ	-0.0020	>0.05	0.0170	>0.05
MA - MJ	-0.0124	>0.05	-0.0132	>0.05

\* Valores significativos considerando un nivel de significancia de 0.05. Los códigos de los grupos corresponden a aquellos de la Tabla V.

Tabla VII. Índices de diferenciación genética de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México, que resultaron de los análisis de varianza molecular para las subdivisiones de la categoría de hábitat.

Grupos	$F_{ST}$	$p$	$\Phi_{ST}$	$p$
<b>Habitat - Sexo</b>				
GH - MM	-0.0016	>0.05	-0.0039	>0.05
GH - PLH	-0.0014	>0.05	-0.0153	>0.05
GH - PLM	-0.0182	>0.05	0.0024	>0.05
GH - TH	-0.0155	>0.05	-0.0168	>0.05
GH - TM	-0.0019	>0.05	0.0010	>0.05
GM - PLH	0.0076	>0.05	0.0036	>0.05
GM - PM	-0.0044	>0.05	0.0194	>0.05
GM - TH	-0.0086	>0.05	-0.0033	>0.05
GM - TM	0.0054	>0.05	-0.2320	>0.05
PLH - PLM	-0.0093	>0.05	-0.0213	>0.05
PLH - TH	-0.0021	>0.05	-0.0258	>0.05
PLH - TM	-0.0139	>0.05	0.0291	>0.05
PLM - TH	-0.0173	>0.05	-0.0140	>0.05
PLM - TM	-0.0117	>0.05	0.4415*	0.03*
TH - TM	-0.0167	>0.05	-0.0034	>0.05
<b>Habitat - Temporada</b>				
2000G - 2001G	0.0166	>0.05	0.0282	>0.05
2000G - 2000PL	-0.0093	>0.05	0.0019	>0.05
2000G - 2001PL	-0.0101	>0.05	0.0086	>0.05
2000G - 2000T	-0.0060	>0.05	-0.0074	>0.05
2001G - 2000PL	-0.0021	>0.05	0.0375*	0.04*
2001G - 2001PL	0.0220	>0.05	0.0447*	0.02*
2001G - 2000T	0.2960*	0.02*	0.0028	>0.05
2000PL - 2001PL	-0.0073	>0.05	-0.0018	>0.05
2000PL - 2000T	-0.0062	>0.05	0.0262	>0.05
2001PL - 2000T	-0.0119	>0.05	0.0066	>0.05

\* Valores significativos considerando un nivel de significancia de 0.05. Los códigos de los grupos corresponden a aquellos de la Tabla V.

Tabla VIII. Índices de diferenciación genética de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México que resultaron de los análisis de varianza molecular para las subdivisiones de la categoría de sexo.

Grupos	$F_{ST}$	$p$	$\Phi_{ST}$	$p$
<b>Sexo - Temporada</b>	0.0020	>0.05	-0.0012	>0.05
2000H - 2001H	0.0025	>0.05	-0.0105	>0.05
2000H - 2000M	0.0045	>0.05	-0.0039	>0.05
2000H - 2001M	-0.0035	>0.05	-0.0400	>0.05
2001H - 2000M	0.0180	>0.05	0.0152	>0.05
2001H - 2001M	-0.0011	>0.05	-0.0125	>0.05
2000M - 2001M	0.0027	>0.05	0.0134	>0.05
<b>Sexo - Meses</b>	-0.0089	>0.05	0.0158	>0.05
eM - fM	0.0046	>0.05	-0.0142	>0.05
eM - mM	-0.0034	>0.05	0.0613*	0.02*
eM - eH	-0.0035	>0.05	0.0073	>0.05
eM - fH	-0.0132	>0.05	0.0305	>0.05
eM - mH	-0.0006	>0.05	0.0483	>0.05
fM - mM	-0.0011	>0.05	0.0349	>0.05
fM - eH	-0.0066	>0.05	-0.0015	>0.05
fM - fH	-0.0282	>0.05	-0.0071	>0.05
fM - mH	-0.0252	>0.05	-0.0013	>0.05
mM - eH	-0.0122	>0.05	0.0250	>0.05
mM - fH	-0.0090	>0.05	0.0371	>0.05
mM - mH	-0.0100	>0.05	0.0060	>0.05
eH - fH	-0.0201	>0.05	0.0274	>0.05
eH - mH	-0.0143	>0.05	0.0078	>0.05
fH - mH	-0.0441	>0.05	-0.0240	>0.05

\* Valores significativos considerando un nivel de significancia de 0.05. Los códigos de los grupos corresponden a aquellos de la Tabla V.

No se observaron diferencias significativas dentro de la población de *C. mauri* entre temporadas, sexos o edades, por lo que no se encontró evidencia de que los individuos que pasan el invierno en Bahía Santa María pertenezcan a poblaciones distintas o que modifiquen, temporada a temporada, su ruta migratoria o su patrón de segregación por clases de edad y sexo. Sin embargo se detectaron diferencias significativas entre los individuos de *C. mauri* al comparar los tipos de hábitat y los meses de muestreo. Estas diferencias sugieren una segregación espacial y temporal de los linajes maternos en el área de estudio. En particular, las diferencias ocurrieron al comparar los haplotipos presentes en enero con aquellos que ocurrieron en marzo, así como los presentes en los tulares con respecto a los de las planicies lodosas (Tabla V).

Al efectuar la comparación entre los grupos en los que se consideraron combinaciones entre las categorías globales (edad, sexo, hábitat, años y meses), esta subdivisión permitió detectar diferencias significativas entre los adultos presentes en los manglares y los jóvenes observados en las planicies lodosas; entre los machos que ocurrieron en las planicies lodosas y los observados en los tulares; entre los individuos que ocuparon los manglares en el 2001 y los que fueron observados en las planicies lodosas, tanto en el 2000 como en el 2001, y los presentes en los tulares en el 2000; así como entre los machos presentes en enero y los machos observados en marzo. Aunque es importante hacer notar que, con la subdivisión de los grupos, el tamaño de muestra se redujo considerablemente, el resultado de estas comparaciones aportan evidencia que sustenta la presencia de diferencias en el uso del hábitat (Tablas V y VII) y apuntan hacia los machos como una fuente de variabilidad importante (Tabla VII).

Con base en la arquitectura de la red de mínima separación puede apreciarse como las diferencias arriba mencionadas están particularmente asociadas con la presencia de los haplotipos del *Grupo B* (Fig. 7, 8, 9, 10, y 11). Consistentemente, los haplotipos de este grupo estuvieron ausentes en alguno de los grupos de las comparaciones que resultaron significativas. Lo anterior indica que, en términos generales y en congruencia con los valores de  $\Phi_{ST}$ :

- 1) Una proporción significativa de los machos del *Grupo B* ocuparon el área a principios de la temporada y no se encontraron presentes a finales de la temporada.
- 2) Algunos de los linajes maternos representados principalmente por machos del *Grupo B* ocurrieron solamente en los tulares.
- 3) Existen haplotipos del este mismo grupo que sólo fueron observados en los manglares. Esto sustenta la idea de que aparentemente la especie exhibe un patrón de segregación espacial con un componente filogenético.

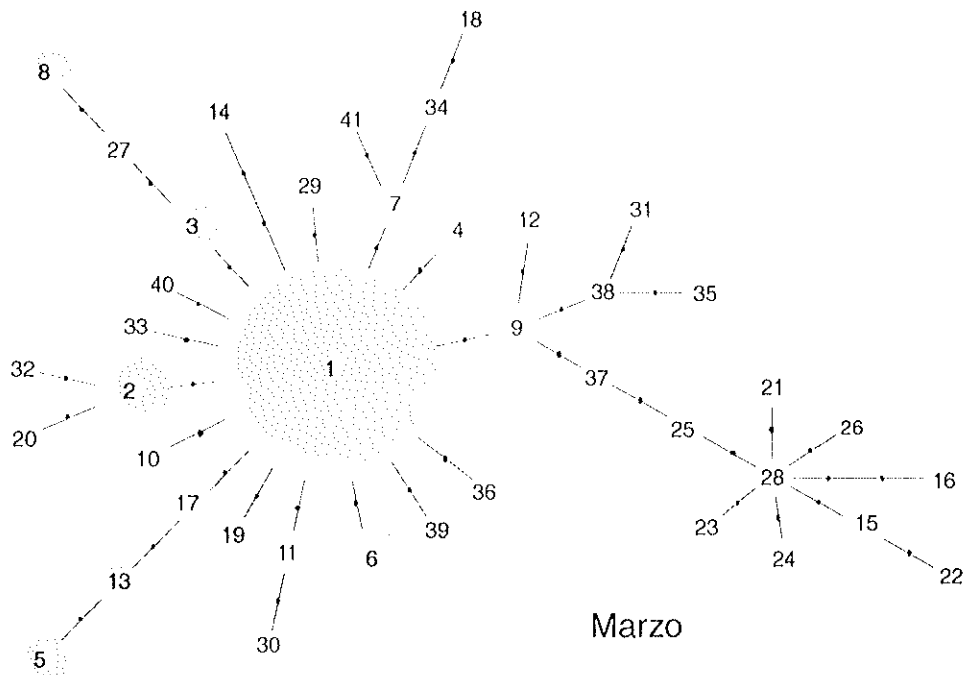
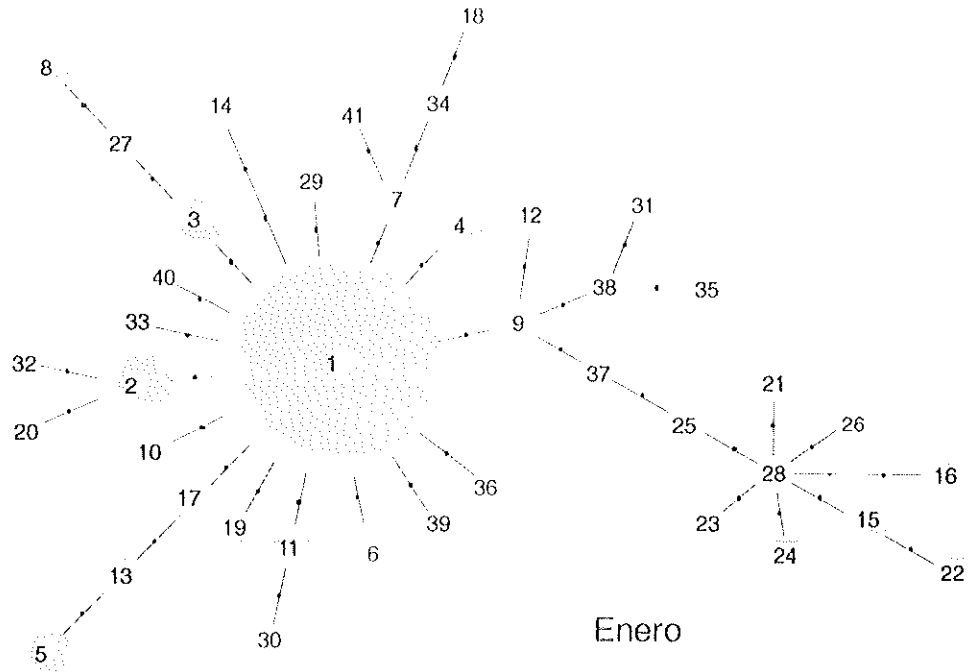
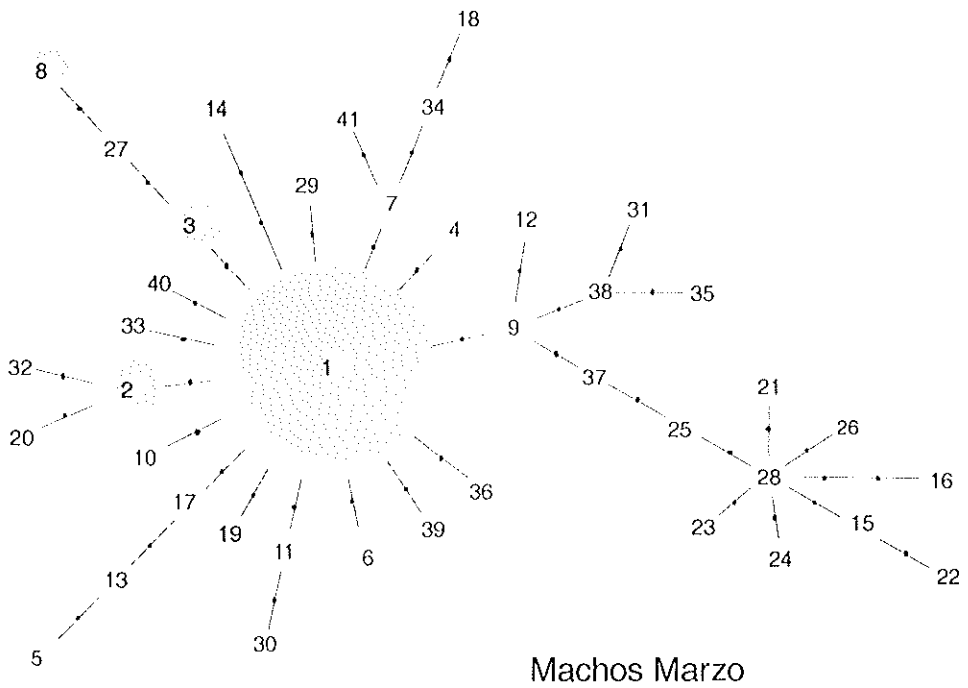
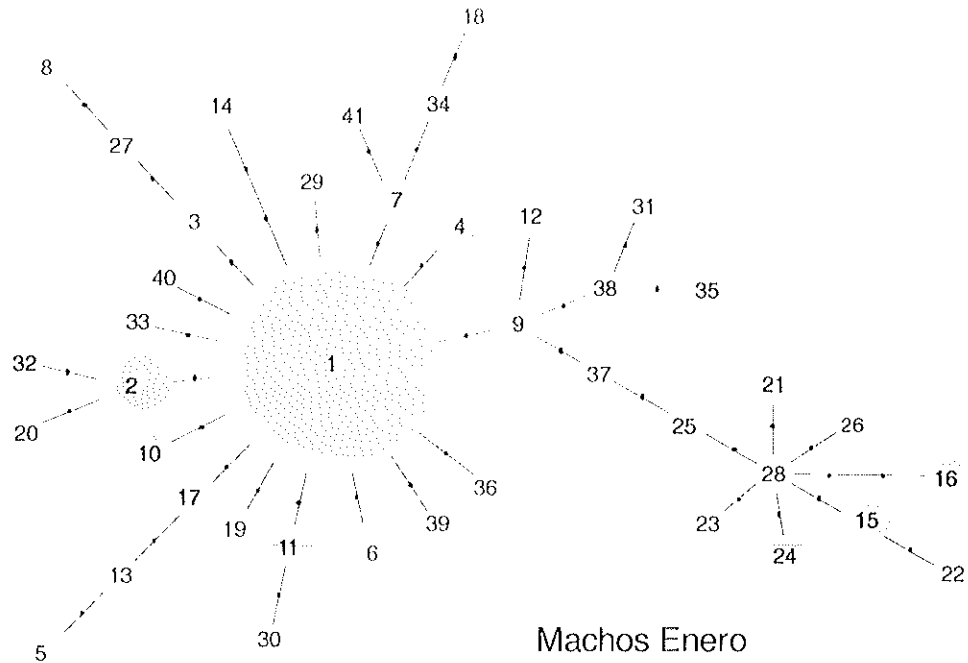


Figura 7. Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en los meses de enero y marzo. Los círculos en color gris representan los haplotipos presentes y en color blanco los haplotipos que no fueron observados.



**Figura 8.** Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de los individuos machos de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en los meses de enero y marzo. Los círculos en color gris representan los haplotipos presentes y en color blanco los haplotipos que no fueron observados.

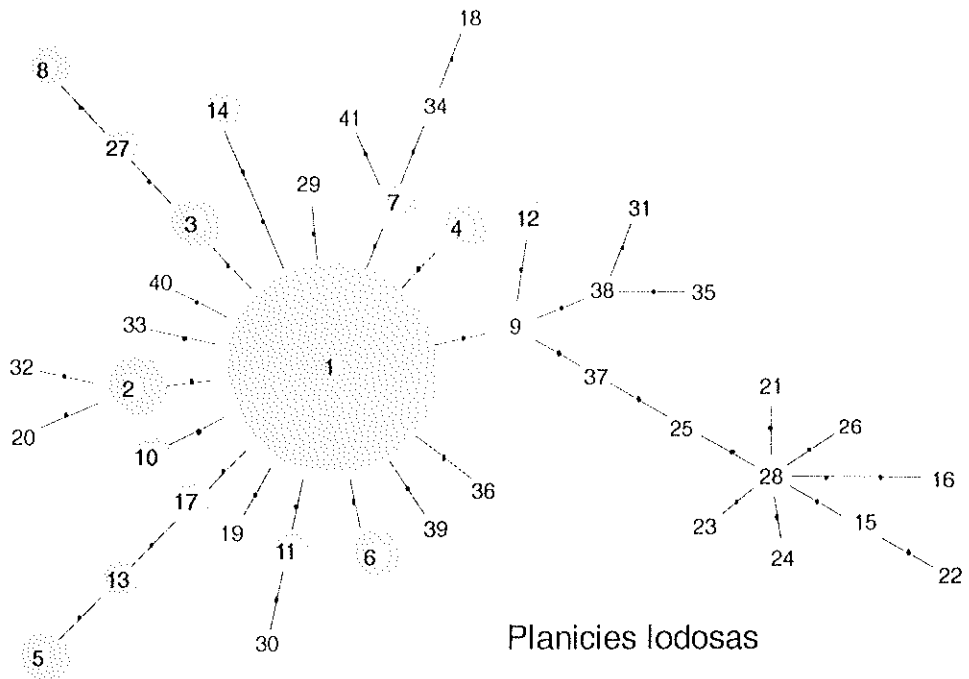
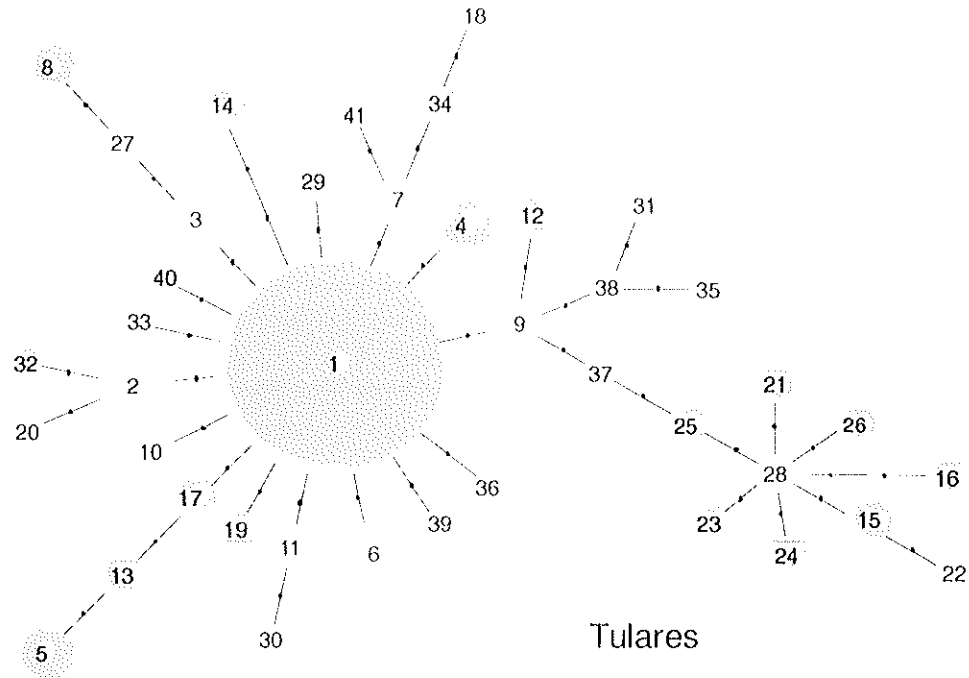
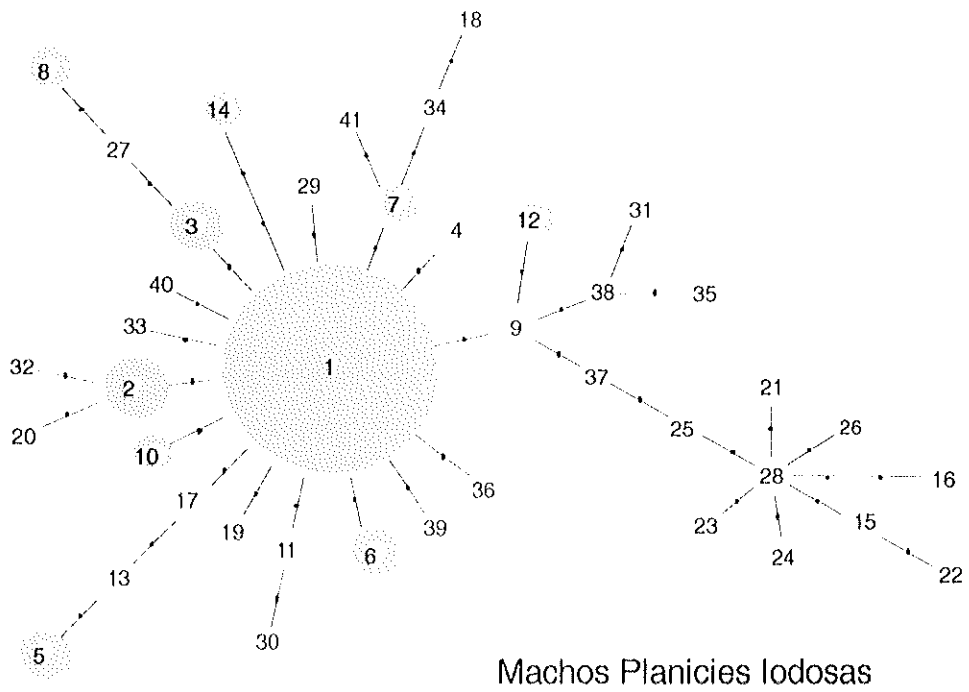
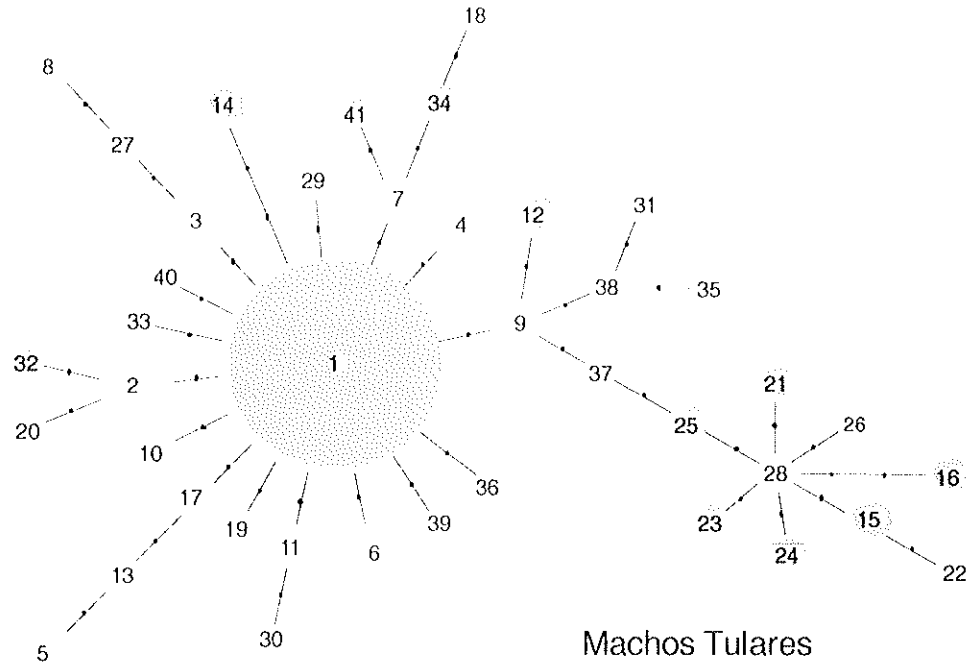
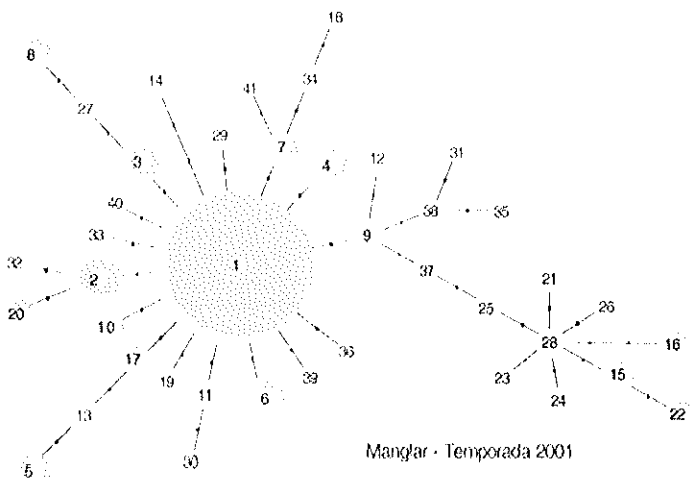
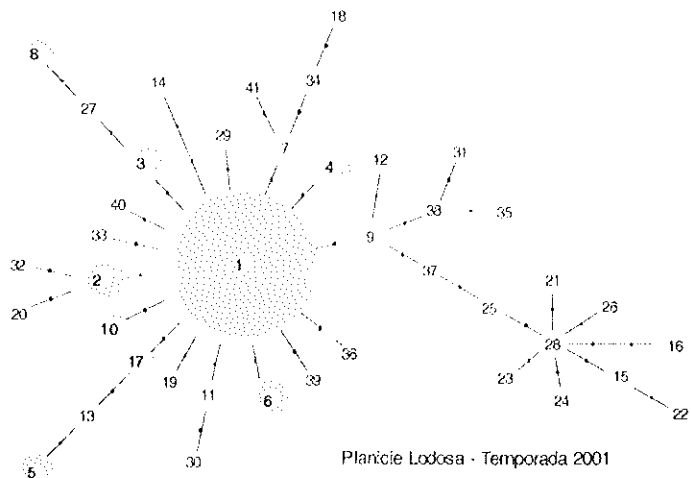
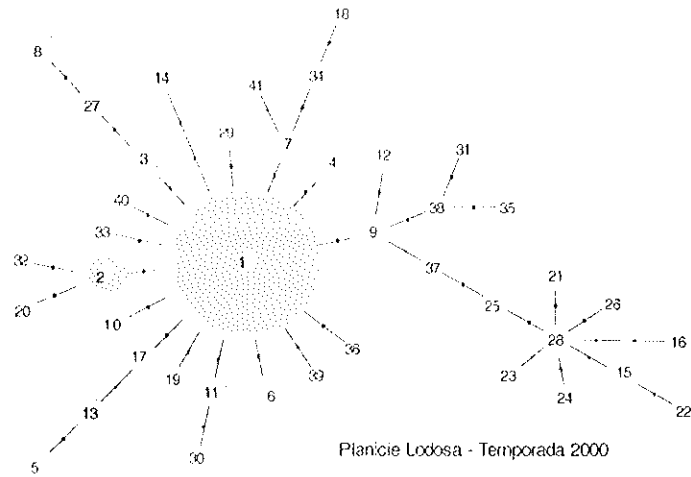


Figura 9. Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en los tulares y las planicies lodosas. Los círculos en color gris representan los haplotipos presentes y en color blanco los haplotipos que no fueron observados



**Figura 10.** Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de los individuos machos de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en los tulares y las planicies lodosas. Los círculos en color gris representan los haplotipos presentes y en color blanco los haplotipos que no fueron observados



**Figura 11.** Red de la mínima separación para los haplotipos maternos de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México, presentes en las planicies lodosas y los manglares. Los círculos en color gris representan los haplotipos presentes y en color blanco los haplotipos que no fueron observados

De acuerdo con Elner y Seaman (2003) , el principal interés en estudios conducidos en los sitios de invernación de aves del género *Calidris* es el de detectar si las preferencias por estos sitios están asociadas con la morfometría general de los individuos. Lo anterior es con el objeto de poder establecer si la morfometría es un factor crítico en la selección del hábitat que explique en términos de energética las tasas de retorno y el patrón migratorio. Por lo tanto, se decidió efectuar un análisis discriminante morfogenético con base en los datos morfométricos de los individuos preclasificados en función del grupo filogenético al que pertenecieran (Tabla IX,X y Fig. 12). En dicho análisis se evidenció que, aunque existen marcadas diferencias entre machos y hembras asociadas con el tamaño del pico y el peso ( $\Lambda$  de Wilks = 0.1523,  $p < 0.05$ ), la discriminación no es significativa entre los *Grupos A y B* (Fig. 12). En otras palabras, no se encontraron indicios de que entre los machos del *Grupo A* y del *Grupo B*, existieran diferencias significativas con respecto a sus dimensiones corporales. El mismo patrón fue observado al comparar las hembras de ambos grupos.

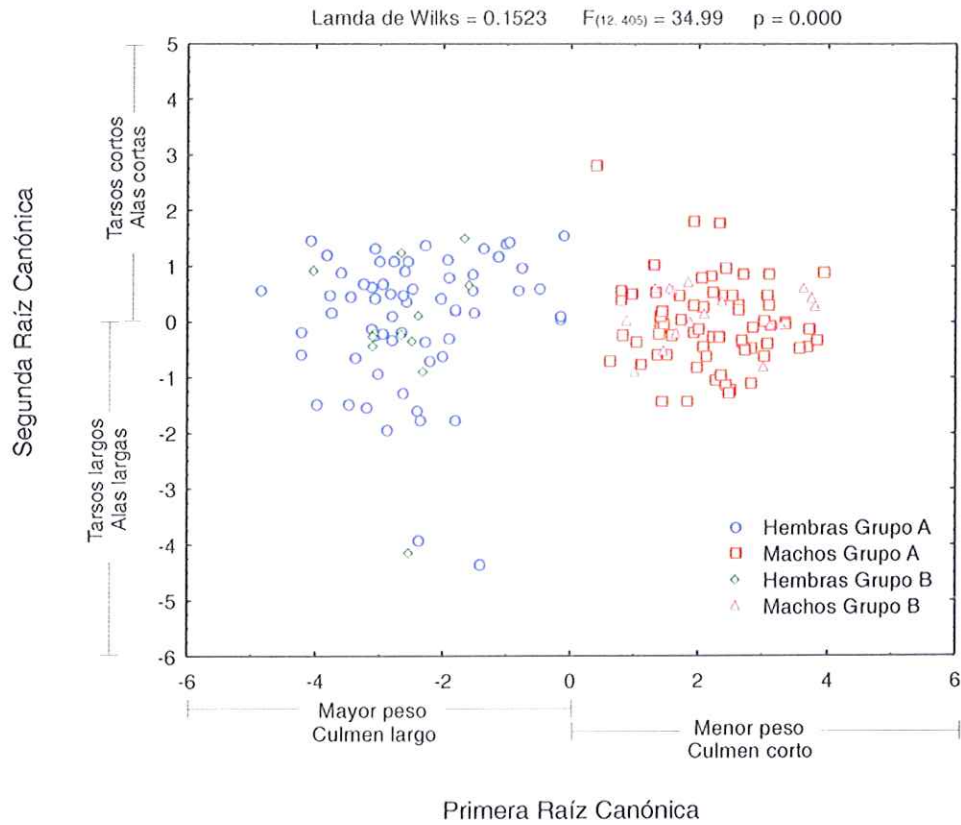
**Tabla IX.** Morfometría de los machos y las hembras de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa , México asignadas a los grupos filogenéticos.

	Hembras		Machos	
	Grupo A	Grupo B	Grupo A	Grupo B
N	63	13	67	17
Cúlmen (mm)	27.0 (0.1)	26.7 (0.4)	22.5 (0.1)	22.5 (0.2) 22.1 (0.1)
Tarso (mm)	23.4 (0.1)	23.3 (0.2)	22.0 (0.1)	
Cuerda alar (mm)	97.8 (0.3)	97.3 (0.8)	94.0 (0.8)	94.2 (0.5)
Peso (g)	24.8 (0.3)	25.2 (0.8)	22.1 (0.2)	21.9 (0.3)

Se presentan las medias y entre parentésis las desviaciones estándar.

**Tabla X.** Resumen del análisis de función discriminante morfogenético de realizado entre grupos filogenéticos y sexos para *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México.

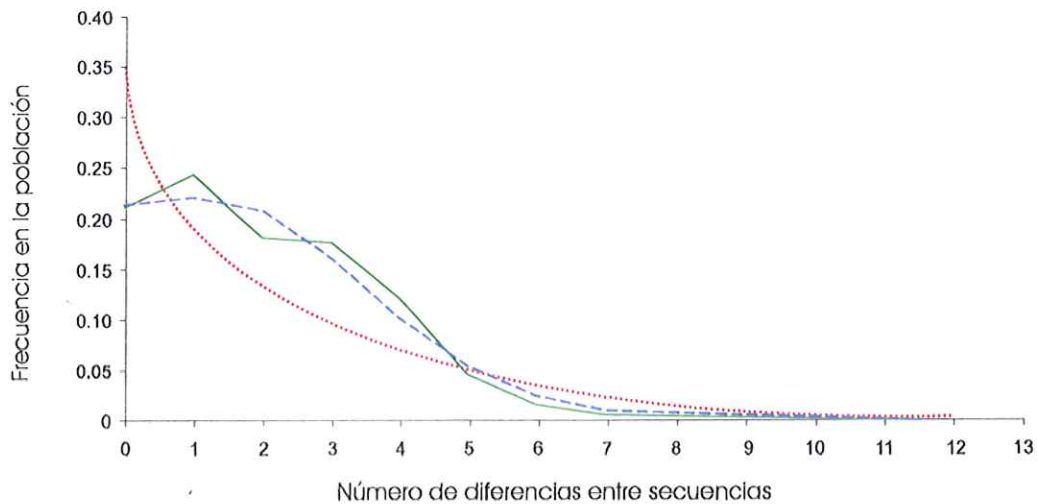
Variable	Lambda de Wilk	Lambda Parcial	F	p	Tolerancia
Culmen	0.5039	0.3022	117.7633	0.0000	0.8803
Peso	0.1565	0.9729	1.4212	0.2387	0.9304
Tarso	0.1543	0.9868	0.6842	0.563	0.8094
Ala	0.1566	0.9726	1.4363	0.2344	0.7680



**Figura 12.** Análisis de función discriminante de tipo morfogenético para machos y hembras de *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México.

## Demografía histórica y filogenia interespecífica

La distribución de frecuencias de la población invernante de *C. mauri* en Bahía Santa María exhibió un patrón bimodal pero poco acentuado y claramente sesgado hacia valores bajos del número de diferencias (Fig. 13). La prueba de bondad de ajuste para esta distribución, bajo la hipótesis de una expansión poblacional, resultó no significativa ( $SSD = 0.002$ ,  $p > 0.05$ ) y fue consistente con el valor bajo del índice de Harpending ( $HRI = 0.015$ ). De igual forma, las pruebas de neutralidad selectiva mostraron valores negativos y significativos ( $D_{Tajima} = -1.73$ ,  $p < 0.05$  y  $F_{S_{Fu}} = -27.28$ ,  $p < 0.05$ ) que indican la presencia de un mayor número de haplotipos al esperado bajo el supuesto de equilibrio demográfico. En conjunto, el resultado de todas estas pruebas permiten inferir un patrón demográfico con una expansión poblacional reciente.



**Figura 13.** Distribución de frecuencias del número de diferencias pareadas en *Calidris mauri* en Bahía Santa María, Sinaloa, México. La línea de color verde representa la distribución observada, la línea de color azul la distribución esperada bajo un escenario de expansión demográfica y la línea de color rojo la distribución esperada para una población de tamaño constante.

Con el objeto de evaluar el estado actual de la población de *C. mauri*, se calculó el tamaño efectivo histórico de la población a través de la ecuación  $Ne_{eff} = N_H T_D / T_G m$  (Enríquez-Paredes 2005). Dado que en este caso el tamaño de la secuencia ( $m$ ) y el número de haplotipos ( $nH$ ) ya se conocen, se procedió a estimar el tiempo de divergencia ( $T_D$ ) y el tiempo generacional ( $T_G$ ).

Para obtener una aproximación del tiempo de divergencia se construyó un árbol filogenético interespecifico del género *Calidris*, enraizado con un grupo externo (Figura 14). Para la construcción de dicho árbol se utilizaron secuencias homólogas de *Calidris canutus* (Buehler y Baker 2005), *Calidris alpina* (Wenink et al. 1996) y *Calidris fuscicollis* (Wennerberg et al. 2002) disponibles en la base de datos del GeneBank, así como las obtenidas en el presente estudio para *Calidris mauri*. El árbol fue calibrado empleando la edad estimada para la divergencia entre el género *Arenaria* y el género *Calidris* (Thomas et al. 2004). Estos autores usaron el método de representación matricial con parsimonia (MRP: Matrix Representation with Parsimony) en un análisis filogenético de todo el Orden Charadriiformes y su estimación para la edad del nodo *Arenaria-Calidris* corresponde a un valor cercano a los 26.7 millones de años.

La topología linearizada del árbol filogenético de las cuatro especies de *Calidris* sugiere un tiempo de divergencia de alrededor de 12 millones de años (Fig. 14).

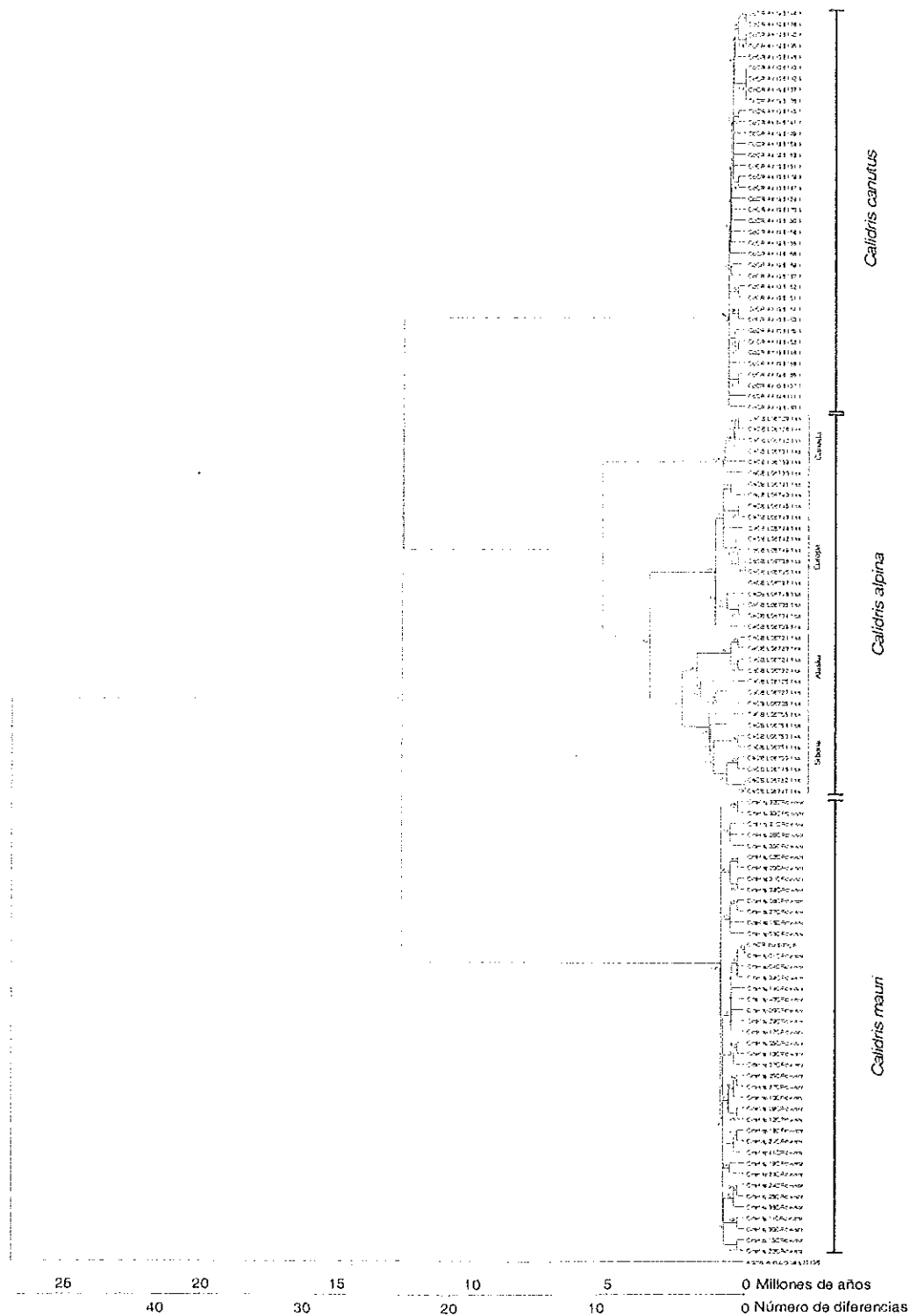


Figura 14. Árbol filogenético interespecífico de mayor consenso del género *Calidris* basado en secuencias homólogas de la región control mitocondrial (242 pb, 500 remuestros por bootstrap). La topología fue linearizada y calibrada con la estimación del tiempo de divergencia entre el género *Calidris* y el género *Arenaria* (cf. Thomas et al. 2004). Los números de acceso al Gene Bank de las secuencias empleadas en este análisis se detallan en el Anexo 5.

El tiempo generacional puede entenderse como la edad promedio de las hembras reproductivamente activas en una población. Aunque no existen estudios específicos sobre la edad de primera reproducción y senectud en el género *Calidris*, Buehler y Baker (2005) consideraron un tiempo generacional de dos años para el cálculo del tamaño efectivo en poblaciones de *C. alpina* y *C. canutus*, por lo que se decidió usar también dos años para el caso de *C. mauri*. De esta forma 41 haplotipos, 12,000,000 años de tiempo de divergencia, 2 años de tiempo generacional y una secuencia con una longitud de 685 pares de bases dan como resultado un tamaño efectivo poblacional de 359,124 hembras reproductivamente activas.

El tamaño efectivo de la población  $N_{eff}$  puede extrapolarse al tamaño total de la población con base en el conocimiento de la estructura de edades y sexos de la población. Como la información sobre la estructura social en el género *Calidris* es muy escasa, usamos los promedios reportados en otras especies. Nunney (1995) señaló que la razón  $N_e/N$ , donde  $N$  es el total de adultos en la población, es generalmente 1:2 en especies con generaciones traslapadas. Por tanto  $N_e$  se multiplicó por dos para obtener  $N$  que, en el caso del análisis de marcadores genéticos mitocondriales, corresponde tan sólo al número de hembras adultas. Suponiendo una proporción de sexos de 1:1, entonces  $N$  se multiplica de nuevo por dos para incluir al total de adultos en la población. Finalmente, se puede considerar multiplicar por un factor que va desde uno hasta tres para incorporar a la estimación a los individuos jóvenes. Dado el desconocimiento sobre la proporción de adultos y jóvenes en *C. mauri* se decidió emplear un valor intermedio.

En resumen, para extrapolar el tamaño efectivo al tamaño total de la población del Playero Occidental, *N<sub>e</sub>* se multiplicó por un factor de ocho obteniendo entonces una estimación total de 2,872,993 individuos.

# Discusión

## Identidad y estructura genética poblacional en Bahía Santa María

Los análisis de estructura genética y la filogenia interespecífica sugieren, en conjunto, que los Playeros Occidentales (*Calidris mauri*) que invernan en Bahía Santa María constituyen parte de una población que exhibe un patrón migratorio interanual en el que existe fidelidad a la zona de internación, confirmando así lo encontrado por otros estudios basados en la captura-recaptura/avistamiento de individuos (Smith y Stiles 1979, Fernández et al. 2003). Carmona et al. (2004) sugieren que los migrantes pueden seguir dos rutas durante su migración (al sur) en la región costera del noroeste de México: a lo largo de la costa occidental de la Península de Baja California, o bien por la región costera continental (Sonora y Sinaloa). A pesar de que se contó con una muestra muy reducida de otras localidades de la costa del Pacífico Mexicano, no se detectó en ellas algún haplotipo distinto a los observados en Bahía Santa María. Por lo tanto, no se encontró evidencia de que diferentes grupos genéticos ocupen esas localidades.

En esta población invernante, se observó que uno de los haplotipos representó prácticamente al 50% de los individuos y que de él derivan la mayoría de los haplotipos restantes. Sin embargo, la presencia de una arquitectura ligeramente polarizada en la red de la mínima separación permite suponer la presencia de cierta diferenciación genética entre los denominados *Grupos A* y *B* (Fig. 6). Si este *Grupo B* representa una subpoblación, una subespecie, un grupo con distinta ruta o destino migratorio, o bien es simple reflejo del polimorfismo ancestral de una población panmítica en la que ha

generado cierta diferenciación genética, deberá resolverse con un muestreo extensivo que incluya otras zonas de invernación y las áreas de reproducción.

Al no encontrar diferencias entre los linajes maternos de los individuos que ocurrieron durante el invierno en Bahía Santa María, en diferentes temporadas y sin importar el sexo y la edad (cf. Tabla V), los resultados del presente estudio sustentan el patrón migratorio sugerido por estudios previos realizados a través de anillado y telemetría (Butler et al. 1996, Fernández-Aceves 2005).

Por otro lado, con las diferencias detectadas entre los individuos que ocuparon diferente hábitat y que ocurrieron en diferentes momentos de la temporada invernal (cf. Tabla V), se evidenció la existencia de una segregación espacial y temporal de los linajes maternos. El análisis detallado de los linajes indicó que un grupo de ellos, representado principalmente por machos que no ocuparon las planicies lodosas y que ocurrieron a principios de la temporada invernal (enero), es el responsable de tales diferencias (Figs. 7-11). Resulta interesante que además estos linajes se encuentran estrechamente relacionados y constituyen, de acuerdo con el análisis filogenético, un grupo genético diferenciable (*Grupo B*, Figs. 4 y 5).

Aún más interesante resulta observar que el patrón de segregación genético- espacial resultó congruente con la distribución diferencial que documentan Fernández y Lank (2006) donde plantean la posible existencia de competencia que provocaría que ciertos individuos subordinados estuvieran siendo desplazados a un hábitat "subóptimo". Aunque el presente análisis discriminante morfogenético (Fig. 12) fue consistente con la

ausencia de diferencias morfológicas entre los individuos presentes en diferente tipo de hábitat reportados por los autores, resulta de gran relevancia el hecho de que en el presente análisis de estructura genética las diferencias estuvieran asociadas a un grupo con estrecha relación filogenética.

Estos resultados permiten plantear la existencia de un grupo con diferente cronología migratoria o bien la existencia de segregación de grupos genéticos durante la migración. Las muestras empleadas en este estudio, al estar restringida a un área de invernación del corredor del Pacífico no permite establecer si este aparente carácter subordinado del *Grupo B* (Fig. 6) se debe a que la mayor parte de este grupo anide en otra zona (p.e. Siberia) y exhiba una ruta o una cronología migratoria diferente a la del *Grupo A* (Butler et al. 1996). Aunque este escenario explicaría la baja frecuencia de los haplotipos del *Grupo B* en Bahía Santa María, la especie es considerada monotípica (sin subespecies) por lo que este aspecto requerirá resolverse en futuros estudios. A reserva de que estudios posteriores permitan esclarecer la hipótesis arriba planteada, la aparente existencia de un patrón de selección de hábitat con un componente filogenético resalta la importancia de los estudios de la distribución local de los individuos para la conservación de los hábitat críticos para estas especies.

## Diversidad genética y demografía histórica

La diversidad nucleotídica observada en *Calidris mauri*, aunque relativamente baja, puede considerarse similar a la de otras especies del género *Calidris* (Tabla XI). Esta diversidad es un claro reflejo de la historia evolutiva de las poblaciones, particularmente de las fluctuaciones demográficas y de los eventos de fragmentación del hábitat. Por esta razón se consideró más adecuado tomar en cuenta el tamaño poblacional y la filogeografía de varias especies del género *Calidris* en la comparación de los niveles de diversidad genética y la historia demográfica.

Tabla XI. Cuadro comparativo de los índices de diversidad genética y el tamaño poblacional en varias especies del género *Calidris* ( $n$  = tamaño de muestra,  $nH$  = número de haplotipos y  $\pi$  = diversidad nucleotídica).

Especie	Tamaño Poblacional*	$n$	$nH$	$\pi$	Referencia
<i>C. alpina</i>	4,000,000	208	53	0.0160	Wenink y Baker (1996)
<i>C. fuscicollis</i>	400,000	52	21	0.0039	Wennerberg et al. (2002)
<i>C. canutus</i>	1,300,000	91	25	0.0020	Buehler y Baker (2005)
<i>C. mauri</i>	3,500,000	179	41	0.0029	Este trabajo

\* Las estimaciones del tamaño poblacional corresponden a censos recientes reportados por Morrison et al. (2001).

En la tabla XI y las figuras 15-20 se resume el conocimiento actual sobre la diversidad genética, filogeografía, demografía histórica y tamaño de las poblaciones de *Calidris alpina*, *Calidris fuscicollis*, *Calidris canutus*, en conjunto con el obtenido en este trabajo para *Calidris mauri*. Todas estas especies realizan migraciones de gran escala y se reproducen en la tundra ártica (cf. Figs. 19 y 20). Esta región sufrió severos cambios climáticos durante el Pleistoceno que provocaron importantes fluctuaciones en la extensión y la disponibilidad del hábitat reproductivo de esta aves playeras (Baker et al. 1994, Wennerberg et al. 2002, Buehler y Baker 2005, Pruett y Winker 2005).

*C. alpina* exhibe los valores de diversidad genética más altos debido a que posee, además un tamaño poblacional mayor al de las otras especies, una distribución más amplia y una clara estructura filogeográfica, con linajes característicos de Canadá, Europa, Siberia y Alaska (Figs. 18 y 20). En otras palabras existen subpoblaciones geográficamente aisladas entre las que hay un flujo genético restringido. Claramente puede inferirse a partir del árbol filogenético interespecífico (Fig. 14) y de su red de la mínima separación (Fig. 18), que la historia demográfica de *C. alpina* es mucho más antigua. La profundidad de los nodos en el árbol filogenético y el considerable número de cambios en la arquitectura de la red, son evidencia de que ha transcurrido suficiente tiempo para segregar los linajes y establecer una marcado patrón filogeográfico. De acuerdo con Buehler y Baker (2005), la historia evolutiva de esta especie no ha sido influenciada por reducciones severas en su tamaño poblacional durante los últimos 200,000 años. Aparentemente una fragmentación de sus población que debió haber ocurrido durante la glaciación de Illinois hace aproximadamente 215,000 años, separando los linajes canadienses de los europeos. El grupo europeo se expandió

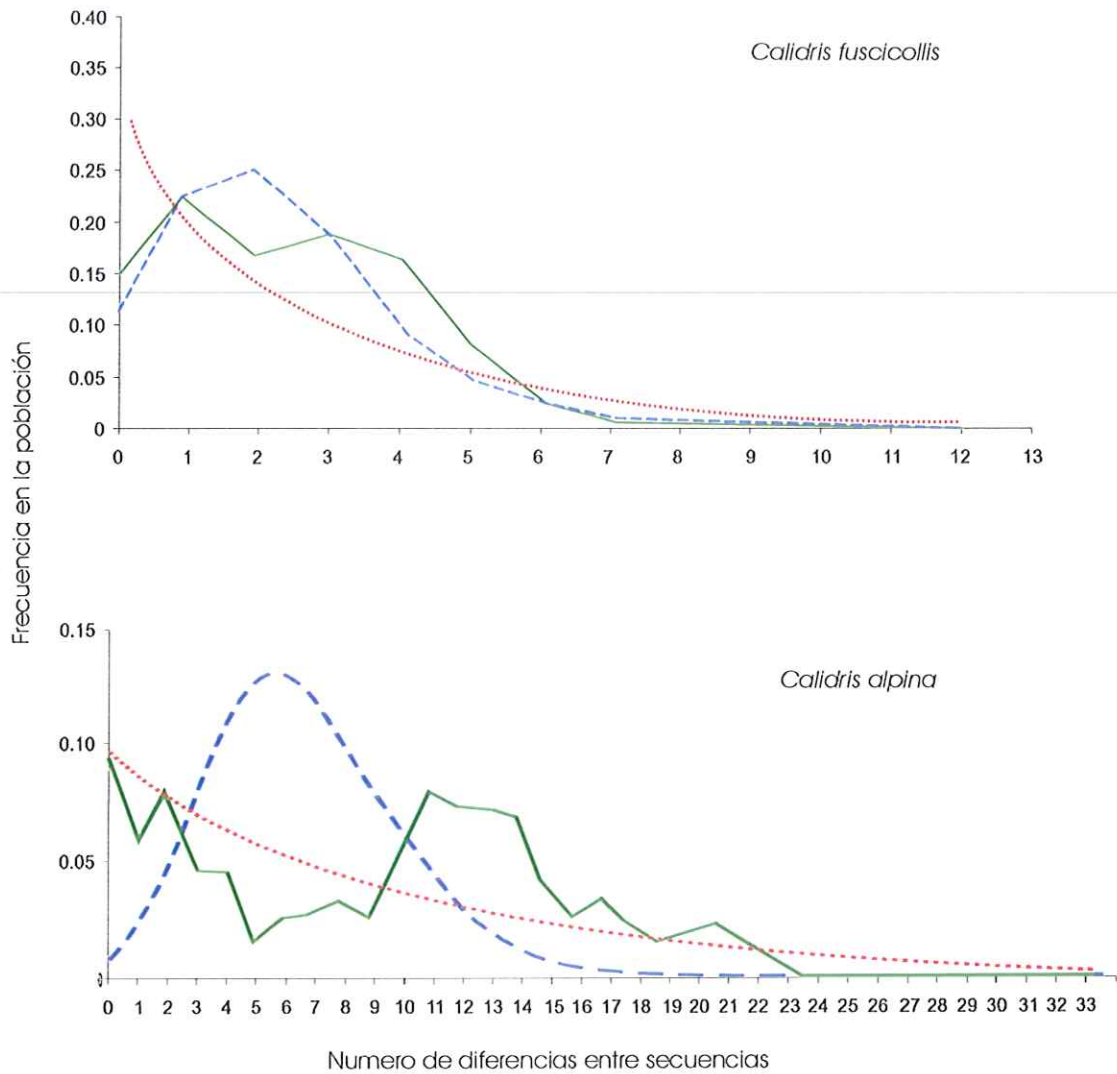
posteriormente hacia el oeste, hasta Alaska. Esto último se refleja claramente en el carácter radiado del grupo de haplotipos europeos que sugiere una expansión demográfica una vez que la población sufrió su primera fragmentación. La distribución multimodal de la distribución de frecuencias de diferencias pareadas soporta la presencia de varias poblaciones e indica estabilidad demográfica.

En el caso de *C. fuscicollis*, pese a que tiene un tamaño poblacional actual mucho menor al de las otras especies (Tabla XI), exhibe una diversidad genética mayor que la observada en *C. canutus* y *C. mauri*. Una posible explicación de este fenómeno es que a esta especie le afectó de manera importante la glaciación del Wisconsin, que ocurrió hace aproximadamente 20,000 años. Aunque su diversidad genética no es tan alta como en el caso de *C. alpina*, que tiene una clara estructura filogeográfica, Wennerberg et al. (2002) reportan cierto grado de estructuración genética entre las zonas de reproducción orientales y aquellas de la porción este-centro para *C. fuscicollis*. Considerando que las zonas de reproducción de esta especie se localizan en la porción norte centro de Canadá (Fig. 20) y que durante la glaciación del Wisconsin estas zonas quedaron prácticamente cubiertas por hielo, es muy probable entonces que la reducción en la abundancia haya sido mucho mayor y que la población haya quedado relegada en al menos más de un refugio, manteniendo estos niveles intermedios de diversidad genética que se reflejan en la arquitectura bifurcada de su red de mínima separación y en la distribución de frecuencia bimodal de las diferencias pareadas (Figs. 16 y 18).

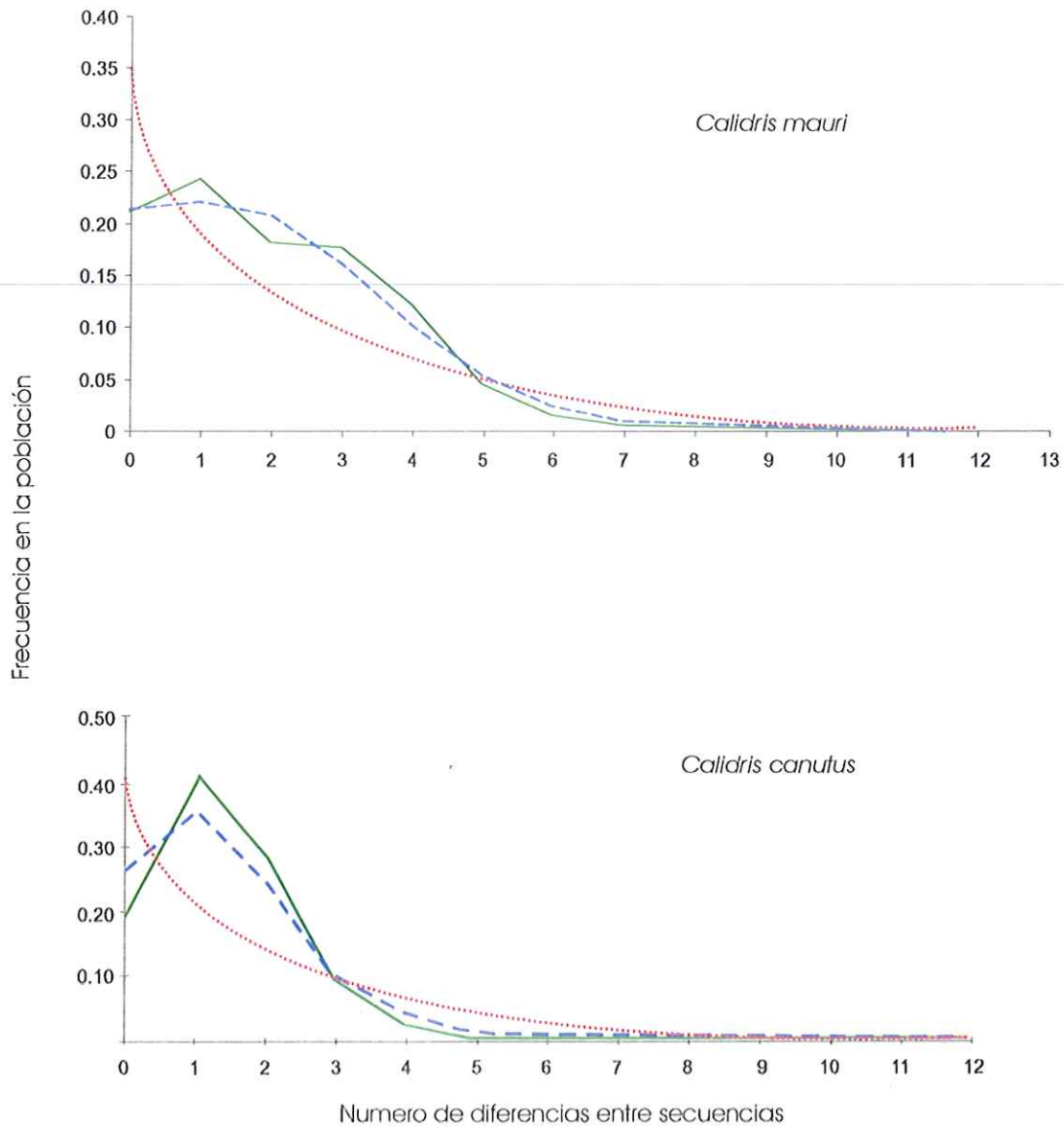
En cuanto a *C. canutus*, cuyas zonas de reproducción coinciden aproximadamente con las de *C. alpina*, aunque con una extensión menor, Buehler y Baker (2003, 2005) han

propuesto que durante la glaciación del Wisconsin (hace 20,000 años) se presentó un cuello de botella demográfico y una expansión poblacional hacia el oeste a partir de los refugios localizados en Beringia (Fig. 21). Sin embargo, es claro que la historia evolutiva de *C. canutus* es más reciente ya que, a pesar de que se reconocen varias subespecies presenta una curva típica unimodal en su distribución de frecuencia de diferencias pareadas y una arquitectura escasamente polarizada en la red de la mínima separación (Figs. 15 y 17). Quizá la separación entre los grupos reproductivos de esta especie es demasiado reciente y durante el último evento de expansión poblacional no ocurrió una separación completa entre los linajes maternos (polimorfismo ancestral compartido).

Finalmente, *C. mauri* exhibió niveles de diversidad genética similares a los de *C. canutus* pero, en congruencia con su mayor tamaño poblacional, un mayor número de linajes maternos y huellas claras de una expansión poblacional reciente (Figs. 15 y 17). Aunque la presencia de una ligera polarización en su red de la mínima separación plantea la posible existencia de una estructuración poblacional, pero debido a la limitación espacial del muestreo no es posible determinar con certeza. Esta especie se reproduce exclusivamente en Beringia y esa zona no sufrió reducciones tan importantes en la disponibilidad del hábitat debido al que solamente las regiones montañosas y los valles de glaciación quedaron cubiertos de hielo (Gualtieri et al. 2000). De hecho, es factible que la clara huella de expansión poblacional observada en *C. mauri* sea reflejo de que al descender el nivel de mar durante las glaciaciones, quedaron disponibles extensas áreas de estepa que permitieron la súbita expansión demográfica de la especie (Fig. 21).

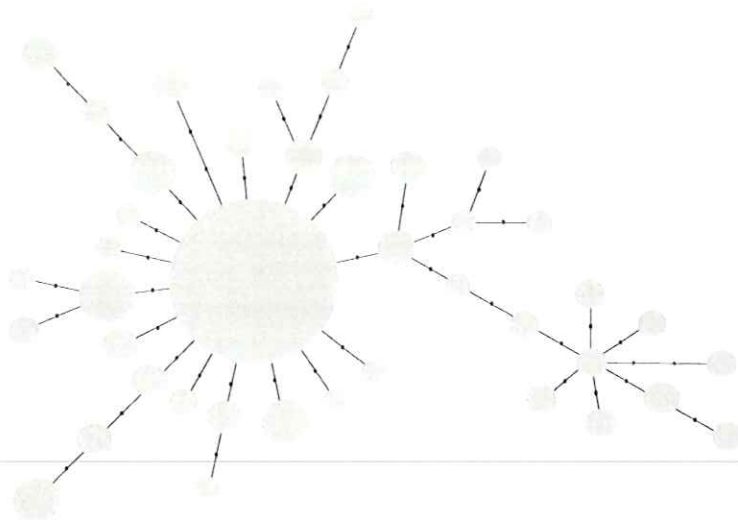


**Figura 15.** Distribución de frecuencia de las diferencias pareadas (Mismatch Distribution) en *Calidris mauri* (datos de este trabajo) y *Calidris canutus* (datos tomados de Buehler y Baker 2005). La línea verde representa la frecuencia observada, la línea azul representa las frecuencias esperadas en una población en expansión y la línea roja representa la frecuencia esperada en una población que ha mantenido su tamaño constante a través del tiempo.



**Figura 16.** Distribución de frecuencia de las diferencias pareadas (Mismatch Distribution) en *Calidris fuscicollis* (datos tomados de Wennerberg *et al.* 2002) y *Calidris alpina* (datos tomados de Buehler y Baker 2005). La línea verde representa la frecuencia observada, la línea azul representa las frecuencias esperadas en una población en expansión y la línea roja representa la frecuencia esperada en una población que ha mantenido su tamaño constante a través del tiempo.

## *Calidris mauri*



## *Calidris canutus*

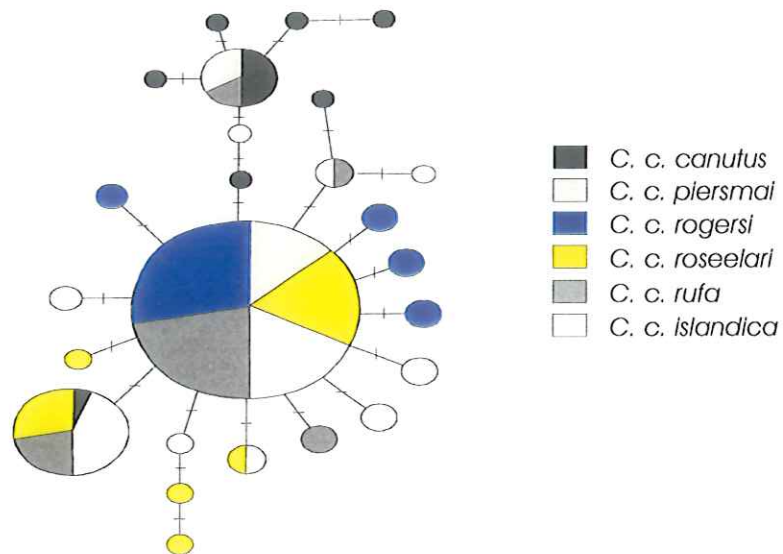
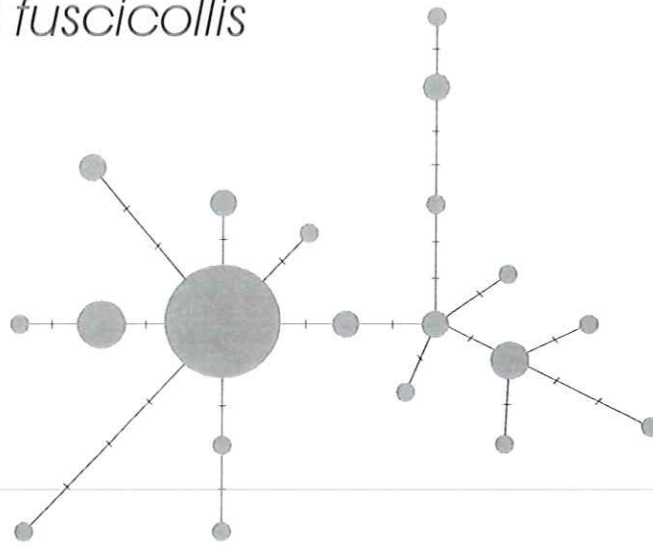


Figura 17. Red de la mínima separación para *Calidris mauri* (este trabajo) y *Calidris canutus* (modificado a partir de Buehler y Baker 2003). Cada círculo representa un haplotipo, el tamaño de este indica su abundancia relativa. Las líneas interconectan los haplotipos en función de la distancia genética entre ellos y las marcas sobre las líneas representan el número de diferencias nucleotídicas entre los haplotipos.

## *Calidris fuscicollis*



## *Calidris alpina*

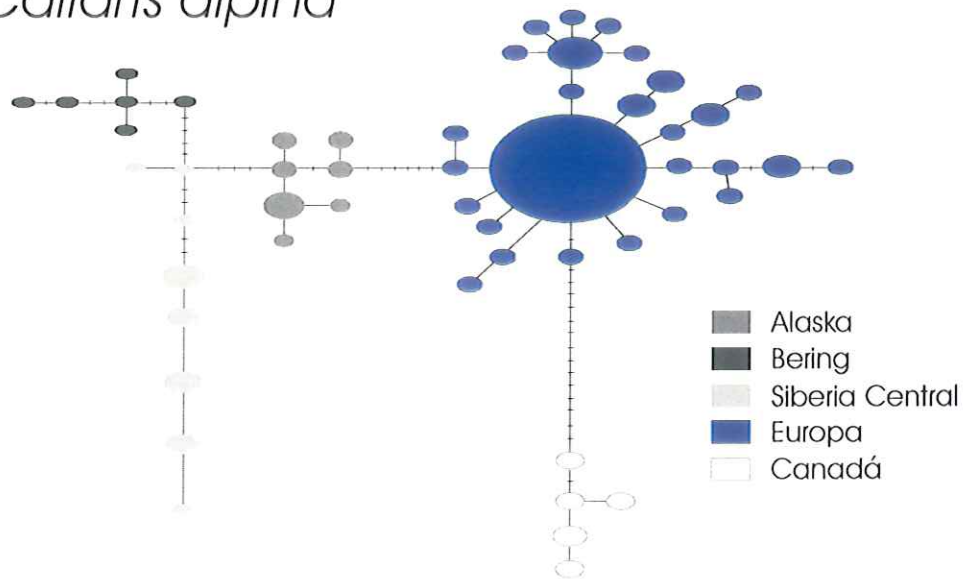


Figura 18. Red de la mínima separación para *Calidris fuscicollis* (modificado a partir de Wennerberg et al. 2002) y *Calidris alpina* (modificado a partir de Wenink et al. 1996). Cada círculo representa un haplotipo, el tamaño de este indica su abundancia relativa. Las líneas interconectan los haplotipos en función de la distancia genética entre ellos y las marcas sobre las líneas representan el número de diferencias nucleotídicas entre los haplotipos

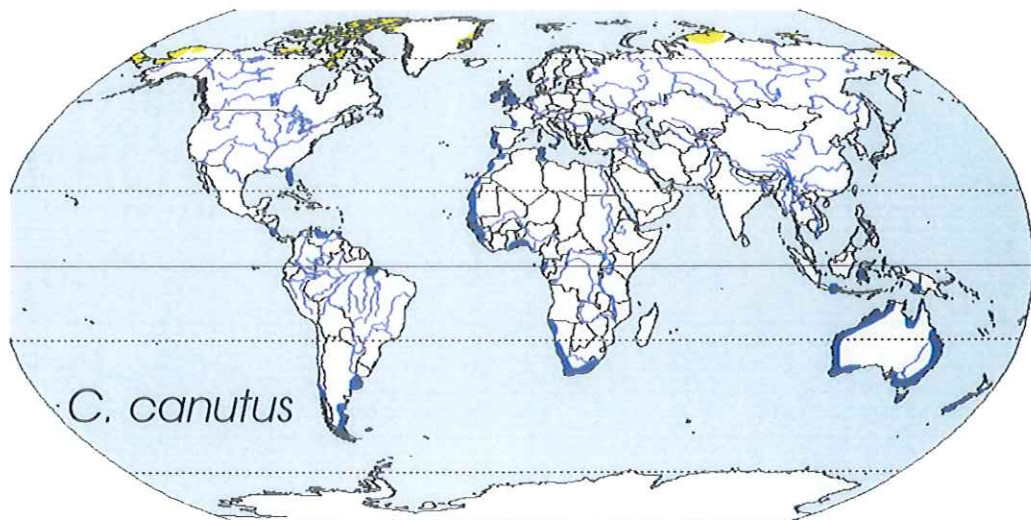
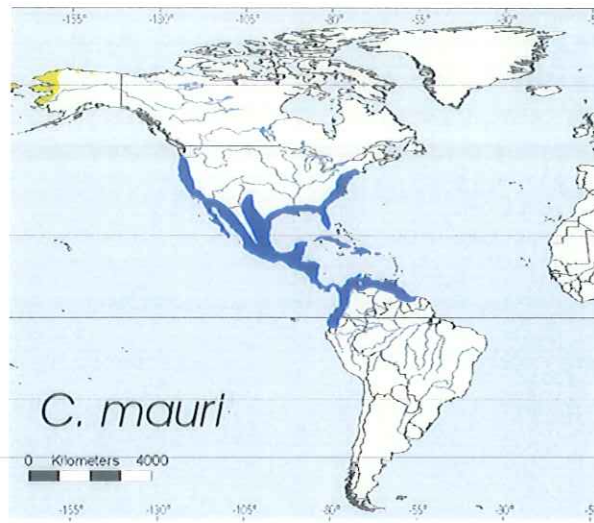


Figura 19. Distribución global de *Calidris mauri* y *Calidris canutus*. En color amarillo se indican las zonas de reproducción y en color azul las zonas de invernación.

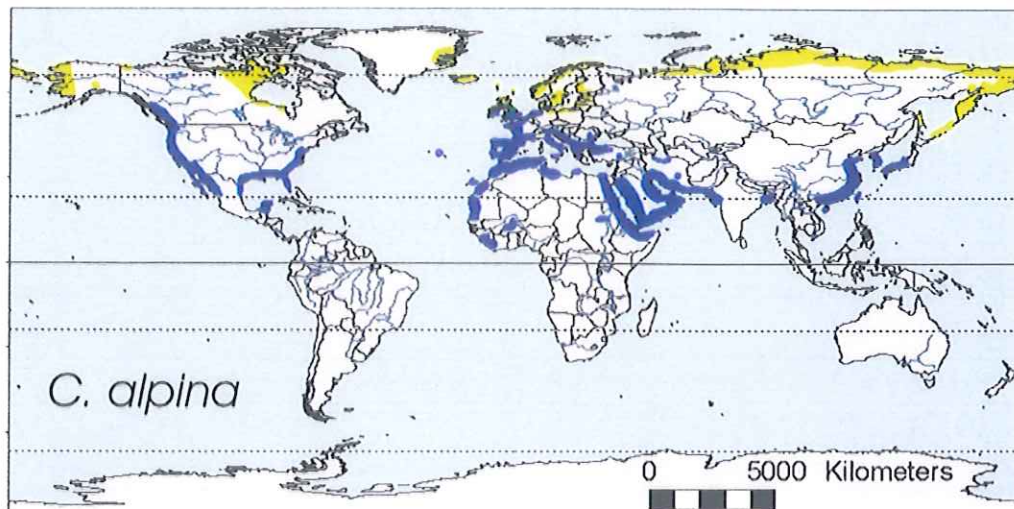
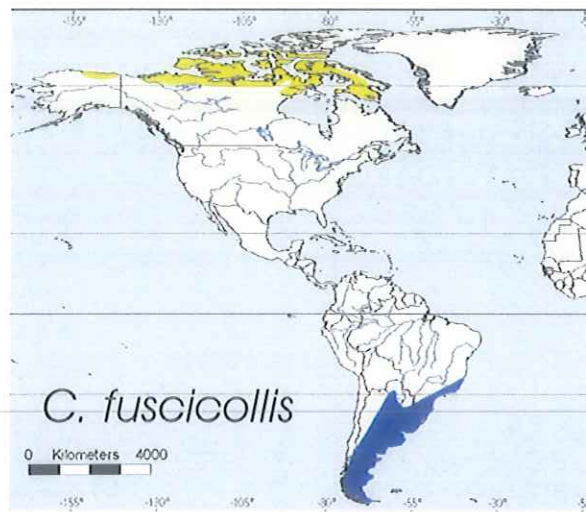


Figura 20. Distribución global de *Calidris fuscicollis* y *Calidris alpina*. En color amarillo se indican las zonas de reproducción y en color azul las zonas de invernación.

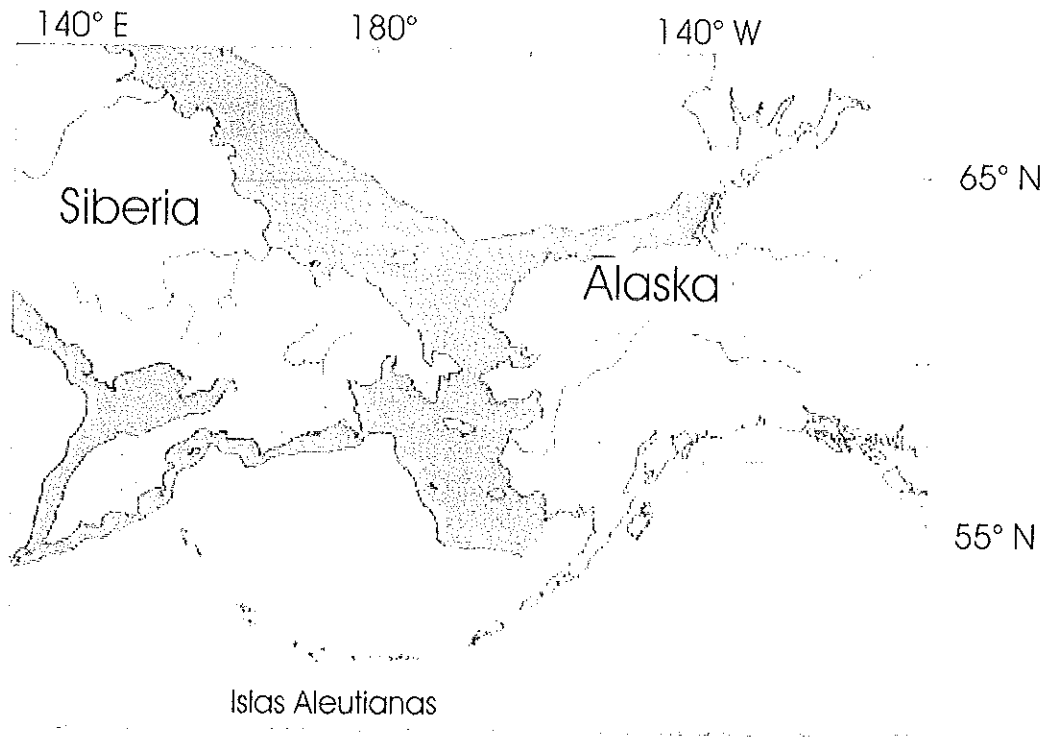


Figura 21. Mapa de la región denominada Beringia en el que se detalla la extensión del puente terrestre (sombreado en gris), las líneas de costa actuales y las áreas que quedaron cubiertas por hielo durante el último máximo glacial (líneas punteadas). Tomado de Pruett y Winker (2005).

La estimación del tamaño poblacional histórico de *C. alpina*, *C. canutus* y *C. mauri* resultó congruente con los niveles de abundancia actuales. Esto permite inferir que aunque muy probablemente los ciclos glaciares impactaran sus poblaciones, haciendo que su abundancia fluctuara de manera importante en su abundancia, no hubo una pérdida considerable de linajes maternos (Tabla XII). El conjunto de huellas demográficas (redes de la mínima separación y distribución de diferencias pareadas) sustentan esta idea y permiten entonces sugerir que las poblaciones de estas especies aparentemente han recuperado sus niveles de abundancia originales. En contraste, la estimación del tamaño histórico para *C. fuscicollis* está muy por debajo al obtenido por censos recientes, aun cuando su diversidad nucleotídica es mayor que la observada en *C. canutus* y *C. mauri*, especies que al igual que esta no exhiben un patrón filogeográfico definido (Tabla XI, Figs. 15-17). Una posible explicación con base al número de haplotipos maternos, es consistente con un escenario de contracción poblacional severa. Como se mencionó anteriormente, la extensión de la glaciación sobre la porción nortecentral del continente americano debió haber tenido un impacto más severo en *C. fuscicollis*, escenario consistente con las diferencias encontradas entre el tamaño actual e histórico de su población y con un menor número de linajes maternos.

De la tabla XII resulta evidente que el número de haplotipos es una mejor huella de la historia demográfica de las poblaciones que los índices de diversidad nucleotídica (Enríquez 2005, Enríquez et al. 2005). La incorporación de el número de linajes maternos en la estimación del tamaño histórico de la población resultó congruente con los escenarios demográficos sugeridos por los análisis filogenéticos y de estructura poblacional.

La presente estimación del tamaño efectivo histórico de la población, en conjunto con un estimador de abundancia reciente (censos), permite entonces evaluar el estatus actual de las poblaciones, aportando con ello información valiosa para desarrollar los planes de conservación y manejo de las poblaciones de aves playeras.

### **Consideraciones finales**

Con el objeto de evaluar que tan representativa pudiera ser la muestra empleada en el presente estudio, se simuló un remuestreo en dos poblaciones cuyos tamaños representan las estimaciones de abundancia de *C. mauri* para el corredor migratorio del Pacífico (1,000,000 individuos, Morrison et al. 2004) y para el grupo que utiliza Bahía Santa María durante el invierno (350,000 individuos; Engilis et al. 1998). Bajo los supuestos de que el número y la frecuencia de los haplotipos observados son los que realmente ocurren en la población global y de que todos los individuos tienen la misma probabilidad de ser capturados durante el muestreo, el resultado de estas simulaciones evidencian que con el tamaño de muestra empleado en este trabajo el número de haplotipos que se esperaría observar sería de entre 30 y 35 (Fig. 22).

Lo anterior sugiere que el número de individuos que se desplazan a lo largo del corredor migratorio del Pacífico, así como aquellos que invernan en Bahía Santa María sea mayor al que se ha estimado en trabajos previos (Engilis et al. 1998). Esta idea esta sustentada por el hecho de que la simulación de la tasa de encuentro de haplotipos únicos no alcanzaría la asintota con el tamaño de muestra empleado.

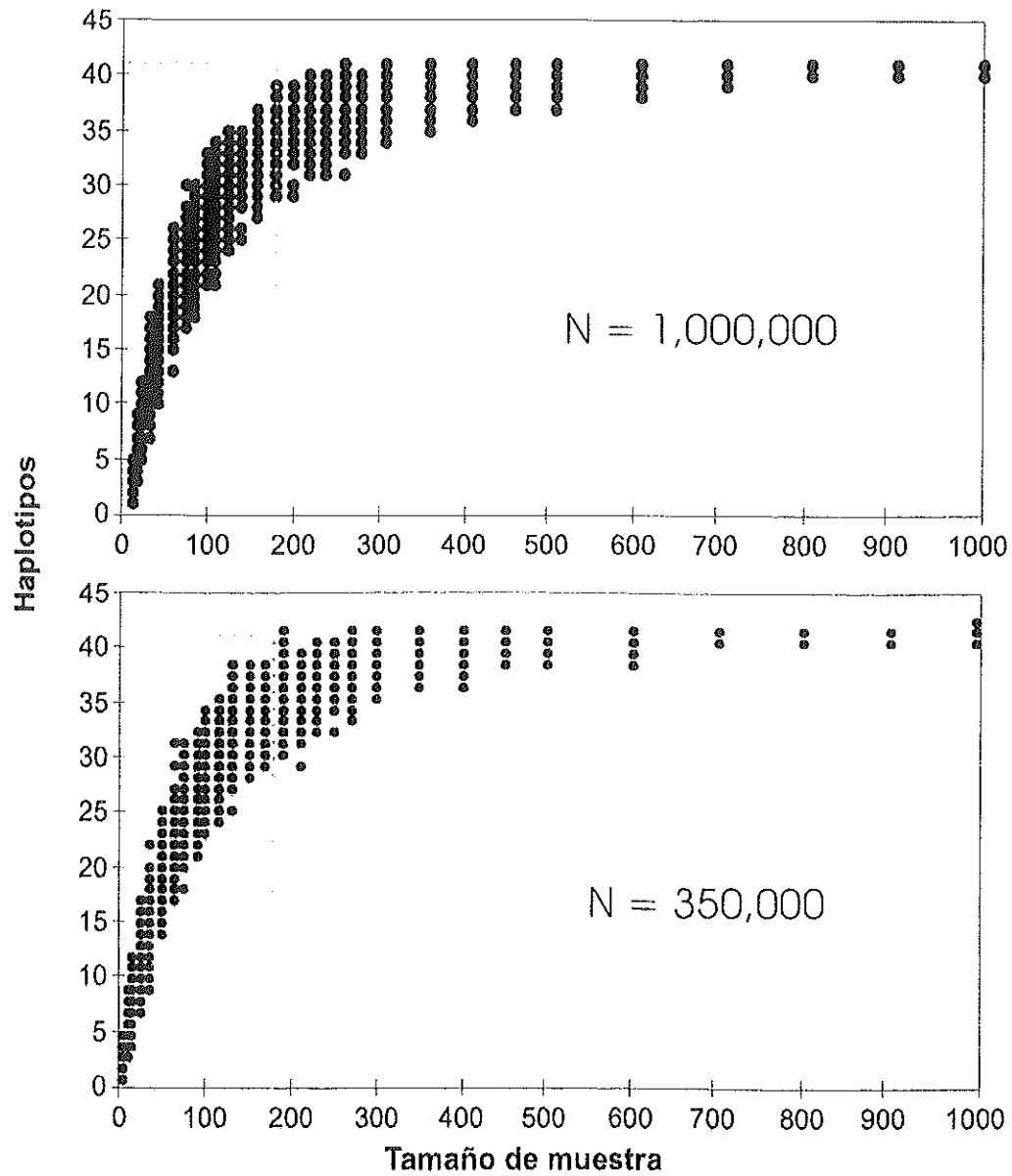


Figura 22. Simulación de la tasa de encuentro de haplotipos nuevos usando diferentes tamaños de muestra, El panel superior plantea una población finita de 1,000,000 de individuos y el panel inferior una población finita de 350,000 individuos, ambos escenarios suponen 41 linajes maternos.

Ya que las simulaciones arriba mencionadas sugieren un tamaño de muestra insuficiente y que el muestreo estuvo restringido exclusivamente a una de las áreas de descanso de *C. mauri* a lo largo del corredor migratorio del Pacífico, existe un nivel de incertidumbre que debe tomarse en cuenta en la interpretación de los resultados que aquí se presentan al ser este el primer reporte de variabilidad genética a nivel mitocondrial en la especie. No obstante, al ser Bahía Santa María una de las áreas de mayor concentración de individuos durante la migración y al estar ubicada en el corredor de Pacífico, por el que se desplazan la mayoría de los migrantes, puede considerarse que el área de estudio es el sitio más adecuado en México para realizar un muestreo que pudiera ser representativo de la población global de *C. mauri*.

## Conclusiones

La población invernante del Playero Occidental *Calidris mauri* en Bahía Santa María posee una baja diversidad nucleotídica, similar a la observada en otras especies del género.

Los linajes maternos observados en Bahía Santa María constituyen un grupo genéticamente homogéneo de individuos de todas las clases de edad y sexos. Esto permite inferir que es una especie monotípica que exhibe el mismo patrón migratorio interanual y cierto grado de fidelidad a la zonas de invernación.

Los machos de *Calidris mauri* exhiben un patrón de segregación espacial y temporal, asociado al tipo de hábitat, aparentemente relacionado con la presencia de dos grupos fenotípicamente similares pero filogenéticamente distinguibles.

El elevado número de haplotipos y la estrecha relación filogenética de mismos, sugieren un escenario de expansión demográfica reciente para *Calidris mauri*.

Aunque es probable que la expansión demográfica en *Calidris mauri* ocurriera después de la última glaciación, la congruencia entre el tamaño actual y el tamaño histórico de su población parecé indicar que esta se encuentra en una fase cercana al equilibrio demográfico.

## Literatura citada

- Awise, J.C., R.M. Ball y J. Arnold. 1988. Current versus historical population sizes in vertebrate species with high gene flow: A comparison based on mitochondrial DNA lineages and inbreeding theory on neutral mutations. *Molecular Biology and Evolution* 5: 331-344.
- Baker, A.J., T. Piersma, T. y L. Rosenmeier. 1994. Unravelling the intraspecific phylogeography of Knots *Calidris canutus*: a progress report on the search for genetic markers. *J. Ornithol.* 135: 599-608.
- Baker, A.J. y T. Piersma. 2000. Life history characteristics and the conservation of migratory shorebirds, p. 105-124. *En* L. M. Gosling and W. J. Sutherland [EDS.], Behaviour and conservation. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Bildstein, K.L., G.T. Bancroft, F.J. Degan, D.E. Gordon, R.M. Erwin, E. Nol, L.X. Payne, y S.E. Semner. 1991. Approaches to the conservation of coastal methods to the Western Hemisphere. *Wilson Bulletin* 103: 145-154.
- Bishop, M.A., P.M. Meyers y P.F. McNeley. 2000. A method to estimate migrant shorebird numbers on the Copper River Delta, Alaska. *Journal of Field Ornithology* 71: 627-637.
- Blomqvist, D., B. Kempnaers, R.B. Lanctot y K. Sandercock. 2002. Genetic Parentage and mate guarding in the Arctic-Breeding Western Sandpiper. *Auk* 119: 228-233.
- Brabata, G. y R. Carmona. 1995. Conducta alimentaria de cuatro especies de aves playeras (Charadriiformes: Scolopacidae) en Chametla, B.C.S., México. *Revista de Biología Tropical* 47: 239-243.
- Buehler, D.M. y A.J. Baker. 2003. Characterization of the red knot (*Calidris canutus*) mitochondrial control region. *Genome* 46: 565-572.
- Buehler, D.M. y A.J. Baker. 2005. Population divergence times and historical demography in red knots and dunlins. *Condor* 107: 497-513.
- Burns, J.G. y R.C. Ydenberg. 2002. The effects of wing loading and gender on the escape flights of least sandpipers (*Calidris minutilla*) and western sandpipers (*Calidris mauri*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 52: 128-136.
- Butler, R.W., F.S. Delgado, H. De La Cueva, V. Pulido y B.K. Sandercock. 1996. Migration Routes of the Western Sandpiper. *Wilson Bulletin* 108: 662-672.

- Campbell, R.W., M.G. Shepard y R.D Drent. 1972. Status of birds in the Vancouver area in 1970. *Syesis* 5: 137-167.
- Campbell, K.E., Jr. 1979. The non-passerine Pleistocene avifauna of the Talera Tar Seeps, northwestern Peru. *Royal Ontario Mus., Life Science Contrib.* No 118.
- Carvajal, M.A. 2003. Conservacion y desarrollo para Bahía Santa María, Sinaloa: Estrategia de Manejo. Comisión para la Consevacion y Desarrollo de Bahía Santa María. 84 pp.
- Carmona, R., G. Ruiz-Campos y G. Brabata. 2004. Seasonal abundance of migrant shorebirds in Baja California Peninsula, Mexico, and California, USA. *Wader Study Group Bulletin* 105: 3-8.
- Colston, P.R. 1975. Occurenceof the Western Sandpiper *Calidris mauri* at Lake Baikal U.S.S.R. *Bull Br. Ornithol. Club* 95: 104-114.
- Connors, P.G., J.P Myers y F.A. Pitelka. 1979. Seasonal habitat use by Artic Alaskan shorebirds. *Studies in Avian Biology* 2: 101-111.
- Dahl, T.E. 1990. Wetland losses in the United States: 1780's to 1980's. U.S. Fish and Wildlife Service, Washington, D.C. 21 pp.
- Dizon, A.E., S.J. Chivers y W.F Perrin. 1997. Molecular genetics of marine mammals. Special Publication number 3. The Society for Marine Mammology. 388 pp.
- Duffy, D.C, N. Atkins y D.C Sneider. 1981. Do shorebirds compete on their wintering grounds? *Auk* 98: 215-229.
- Elnor, R.W y D.A. Seaman. 2003. Calidrid conservation: unrequited needs. *Wader Study Group Bulletin* 100:30-34.
- Enríquez-Paredes, L.M. 2005. Identidad Genética de la Población de Ballena Azul (*Balaenoptera musculus*) en el Pacífico Nororiental: Agregaciones Mexicanas. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B.C., México. 198 pp.
- Enríquez-Paredes, L.M., J. De la Rosa-Vélez y B.L. Taylor. 2005. Estimating pre-whaling stock levels through genetic diversity: A novel approach. Abstracts of the 16<sup>th</sup> Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals. Society of Marine Mammalogy. San Diego, California, December 12-16. 330 pp.
- Engilis, A. Jr., L.W. Oring, E. Carrera, J.W. Nelson y A.M. Lopez. 1998. Shorebirds surveys in Ensenada Pabellones and Bahía Santa María , sinaloa , México: critical winter habitatas for Pacific flyway shorebirds. *Wilson Bulletin* 110: 332-341.

- Ericson, P.G.P, I. Envall, M. Irestedt y J.A. Norman. 2003. Inter-familial relationships of the shorebirds (Aves: Charadriiformes) based on nuclear DNA sequence data. *BMC Evolutionary Biology* 3:16.
- Excoffier, L., P. Smouse y J. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479- 491.
- Fernández-Aceves, G.J. 2005. Ecological and Social Factors affecting the Local Habitat Distribution of western Sandpipers Wintering at Bahía Santa María, Northwest, México. Tesis de doctorado. Department of Biological Sciences. Simon Fraser University. 109 pp.
- Fernández, G., H. de la Cueva, N. Warnock y D.B. Lank. 2003. Apparent survival rates of Western Sandpiper (*Calidris mauri*) wintering in northwest Baja California, México. *Auk* 120: 55-61.
- Fernández, G. y D.B. Lank. 2006. Sex, age, and body size distributions of Western Sandpipers during the nonbreeding season with respect to local habitat. *The Condor*. 108 (en prensa)
- Fu, Y.X. 1996. Estimating the Age of the Common Ancestor of a DNA Sample Using the Number of Segregating Sites. *Genetics*. 144: 829-838
- Gualtieri, L., J. Brigham-Grette y O. Glushkova. 2000. Evidence for restricted ice extent during the last glacial maximum in the Koryak Mountains of Chukotka, far eastern Russia. *Geological Society of America Bulletin* 112: 1106–1118.
- Guthrie, D.A. 1980. Analysis of avifaunal and bat remains from midden sites on San Miguel Island. Pp. 689-702 en *The California islands: Proceedings of a multidisciplinary symposium* ( D. Power, Ed). Santa Barbara Mus. Natur. Hist., Santa Barbara , CA.
- Haig, S.M, C.L. Gratto-Trevor, T.D. Mulins y M.A. Colwell. 1997. Population identification of Western Hemisphere shorebirds throughout the annual cycle. *Molecular Ecology* 6: 413-427.
- Harpending, H. (1994). Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology* 66, 591-600.
- Helmers, D.L. 1992. *Shorebirds Management Manual*. Western Hemisphere Shorebird Reserve Network, Manomet, MA. 58pp.
- Hoelzel, A.R. 1992. *Molecular genetic analysis of populations: A practical approach*. Oxford University Press. New York.

- Holmes, R.T. 1971. Density, habitat, and the mating system of the Western Sandpiper (*Calidris mauri*). *Oecologia* 7: 191-208.
- Holmes, R.T. 1972. Ecological factors influencing the breeding season schedule of Western Sandpipers (*Calidris mauri*) in subarctic Alaska. *The American Midland Naturalist* 87: 472-491.
- Holmes, R.T. 1973. Social behaviour of breeding western sandpipers *Calidris mauri*. *Ibis* 115:107-123.
- Hugues, R.A. 1979. Notes on Charadriiformes of the south coast of Peru. *Studies in Avian Biology* 2: 49-53.
- Jehl, J.R. y B.G. Murray. 1983. The evolution of normal and reverse sexual size dimorphism in shorebirds and other birds. *Current Ornithology* 3: 1-85.
- Kumar, S., K. Tamura y M. Nei .2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:2.
- Kvist, L., J. Martens, A.A. Nazarenko y M. Orell. 2003. Paternal leakage of mitochondrial DNA in the Great Tit (*Parus major*). *Molecular Biology and Evolution* 20(2): 243-247.
- Lopes. R.J., J.C. Marques y L. Wennerberg. 2006. Migratory connectivity and temporal segregation of dunlin (*Calidris alpina*) in Portugal: evidence from morphology ringing recoveries and mtDNA. *Journal of Ornithology*. 147: 385-394.
- Mathot, K. J. y R.W Elner. 2004. Evidence for sexual partitioning of foraging mode in Western Sandpipers( *Calidris mauri*) during migration. *Canadian Journal of Zoology* 82: 1035-1042.
- Mullis, K.B. y F.A. Falona.1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalysed chain reaction. *Meth. Enzymol.*155: 335-350.
- Morrison, R.I.G. y J.P Myers. 1989. Shorebirds flyways in the New World . IWRB Spec. Publ.
- Morrison, M.L., B.G. Marcot y R.W. Mannan .1998. Wildlife-habitat relationships. Concepts and applications. 2nd ed. The University of Wisconsin Press, Madison.
- Morrison, R.I.G, Y.Abry, R.W. Butler, G.W. Beyersbergen, G.M. Donaldson, C.L . Gratto-Trevor, P.W. Hicklin, V.H . Johnson y R.K. Ross. 2001. Declines in the North American shorebirds populations. *Wader Study Group Buletin* 94: 39-43.

- Morrison, R.I. G., R.K. Ross y L.J. Niles. 2004. Declines in Wintering Populations of Red Knots in southern South America. *Condor* 106:60-70.
- Myers, J.P. 1981. Cross seasonal interactions in the evolution of sandpiper social systems. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 8:195-202.
- Myers, J.P., R.I.G. Morrison, P.Z. Antas, B.A. Harrington, T.E. Lovejoy, M. Sallaberry, S.E. Senner y A. Tarak. 1987. Conservation strategy for migratory species. *American Scientist* 75:19-26.
- Nebel, S., D.B Lank, P.D O'Hara, G. Fernández, B. Haase, F. Delgado, F.A. Estela, L.J. Evans Ogden, B. Harrington, B.E. Kus, J. Lyons, B. Ortego, J.Y. Takekawa, N. Warnock y S.E. Warnock. 2002. Western Sandpipers (*Calidris mauri*) during the nonbreeding season: Spatial segregation on a hemispheric scale. *Auk* 119: 922-928.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York. USA.
- Nei, M., S. Kumar y K. Takahashi. 1998. The optimization principle in phylogenetic analysis tends to give incorrect topologies when the number of nucleotides or amino acids used is small. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 12390-12397.
- Nei, M. and S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Nisbet, I.C.T. 1963. Western sandpiper on Fair Isle, Shetland. *British Birds* 56: 55-58.
- Nunney, L. 1995. Measuring the ratio of effective population size to adult numbers using genetic and ecological data. *Evolution* 49(2): 389-392.
- O'Hara, P.D., G. Fernández, B. Haase, H. de la Cueva y D.B. Lank. 2006. Differential migration of western sandpipers with respect to body size and wing length. *Condor* 108: 225-232.
- Page, G. y B. Fearis. 1971. Sexing Western Sandpipers by bill length. *Bird-Banding* 42:297-298.
- Page, G., B. Fearis y R. Jurek. 1972. Age and sex composition of Western Sandpipers on Bolinas Lagoon. *California Birds* 3:79-86.
- Page, G.W., L.E Stenzel y J.E. Kjelson. 1999. Overview of shorebird abundance and distribution in wetlands of the Pacific coast of the contiguous United States. *Condor*. 101:461-471.

- Paton, T., O. Haddrath y A.J. Baker. 2002. Complete mitochondrial DNA genome sequences show that modern birds are not descended from transitional shorebirds. *Proceedings of the Royal Society, London Series B* 269: 839–846
- Paulson, D.P. 1983. Fledging dates and southward migration of juveniles of some *Calidris* sandpipers. *Condor* 85: 99-101.
- Paulson, D.P. 1993. *Shorebirds of the Pacific Northwest*. University of Washington Press, Seattle.
- Pereira, S.L y A.J. Baker. 2004. Low number of mitochondrial pseudogenes in the chicken (*Gallus gallus*) nuclear genome: implications for molecular inference of population history and phylogenetics. *BCM Evolutionary Biology*
- Posada, D. y K.A. Crandall. 1998. Model Test: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 14: 817-818.
- Posada, D. y T.R. Buckley. 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of akaike information criterion and bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic. Biology.* 53: 793-808.
- Pruett, C.L. y K. Winker. 2005. Biological impacts of climatic change on a Beringean endemic: Cryptic refugia in the establishment and differentiation of the rock sandpiper (*Calidris ptilocnemis*). *Climatic Change* 68: 219-240.
- Rochambeau, H., Fournet-Hanocq y J.Vu Tien Khang. 2000. Measuring and managing genetic variability in small populations. *Ann. Zootech.* 49: 77-93.
- Rogers, A.R. y Harpending H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise differences. *Molecular Biology and Evolution.* 9:552-559
- Rokas A., E. Ladoukakis y E. Zouros. 2003. Animal mitochondrial DNA recombination revisited. *Trends in Ecology and Evolution.* 18: 411-417.
- Sandercock, B.K. 1998. Assortative Mating and Sexual Size Dimorphism in Western and Semipalmated Sandpipers. *Auk* 115(3): 786-791.
- Schneider, S., D. Roessli y L. Excoffier. 2000. Arlequin ver. 2.000: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Senner, S.E. y E.F. Martinez. 1982. A review of Western Sandpiper migration in interior North America. *Southwestern Nature.* 27: 149-159.
- Senner, S.E., G.C. West y D. W. Norton. 1981. The spring migration of western sandpipers and dunlins in southcentral Alaska: numbers, timing, and sex ratios. *Journal of Field Ornithology* 52: 271-284.

- Smith, S. M. y F.G. Stiles. 1979. Banding studies of migrant shorebirds in northwestern Costa Rica. *Studies in Avian Biology* 2: 41-47.
- Tajima, F. 1983. Evolutionary relationships of DNA sequences in finite populations. *Genetics*. 105: 437-460.
- Tajima, F. 1996. The amount of DNA polymorphism maintained in a finite population when the neutral mutation rate varies among sites. *Genetics*, 143, 1457-1465.
- Thomas, G.H., M.A. Wills y T. Székely. 2004. A supertree approach to shorebird phylogeny. *BMC Evolutionary Biology* doi:10.1186/1471-2148-4-28.
- Warnock, N. y M.A. Bishop. 1998. Spring stopover ecology of migrant western sandpipers. *Condor* 100: 456-467.
- Weir, B.S y C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Wenink, P.W., A.J. Baker y M.G.I. Tilanus .1993. Hypervariable control region sequences reveal global population structuring in a long-distance migrant shorebird, the dunlin (*Calidris alpina*). *Proceedings of Natural Academy Sciences*. 90: 94-98.
- Wenink , P.W., A.J. Baker y M.G.I.Tilanus. 1994. Mitochondrial control-region sequences in two shorebird species, the turnstone and the dunlin, and their utility in population genetic studies. *Molecular Biology and Evolution* 11: 22-31.
- Wenink, P.W. y A.J. Baker. 1996. Mitochondrial DNA lineages in composite flocks of migratory and wintering dunlins (*Calidris alpina*). *Auk* 113: 744-756.
- Wenink, P.W., A. J. Baker, H.U. Rosner y M.G.J. Tilanus. 1996. Global mitochondrial DNA phylogeography of holarctic breeding dunlins (*Calidris alpina*). *Evolution* 50: 318 -330.
- Wennerberg, L. 2001. Breeding origin and migration pattern of dunlin (*Calidris alpina*) revealed by mitochondrial DNA analysis. *Molecular Ecology* 10: 1111-1120.
- Wennerberg, L., M. Klaassen y Å. Lindström. 2002. Geographical variation and population structure in the White-rumped Sandpiper *Calidris fuscicollis* as shown by morphology, mitochondrial DNA and carbon isotope ratios. *Oecologia* 131: 380- 390
- Widrig, R.S. 1980. The shorebirds of Leadbetter Point. *Wader Study Group Bulletin* 29: 31-36.

- Wilson, A.C., R.L. Cann, S.M. Carr, M. George, U. Gyllensten, K.M. Helm-Bychowsky, R.G. Higuchi, S.R. Paulumbi, E.M Prager, R.D Sage y M. Stoneking. 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of Linnean Society* 26: 375-400.
- Wilson, H. 1994. Western Sandpiper (*Calidris mauri*). In *The birds of North America*, no. 90 (Poole, A. and Gill, F., Eds.). - Birds N. Amer., Philadelphia.
- Wink, M. 2006. Use of DNA markers to study bird migration. *Journal of Ornithology*.147: 234-244.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.



## Anexo 2

### Alineamiento de las secuencias de homólogas de la región control mitocondrial de *Calidris mauri*, *Calidris alpina*, *Calidris canutus*, *Calidris temminckii* y *Arenaria interpres*.

```

(!Domain=Data;)
[
  1 1111111112 2222222223 3333333334 4444444445 5555555556 6666666667 7777777778 ]
[
  1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 TGTCACAACTA TGTGGTGGCC TGCATATACT TGTCCTCCCTC CATACTACAT ACCATCCATG TTCCAAATCC ATTAATTTAC
CaCB_L06721_1aa ----- --CATATACT TGTCCTCCCTC CATACTACAT ACCATCCATG TTCCAAATCC ATTAATCTAC
CcCR_AY198171_1 ----- --CATATACT TGTCCTCCCTC -ATACFACAT ACCATCCATG TTCCAAATCC ATTAATATAC
CcCR_AY198154_1 ----- --CATATACT TGTCCTCCCTC -ATACFACAT ACCATCCATG TTCCAAATCC ATTAATATAC
CmHap01CRcvvanr -----
CmHap02CRcvvanr -----
CtCR_DQ020474_1 -----
CtCR_DQ020460_1 -----
ArenariaCRorigi TGGCTAACTA TGTACTGGTT TGCATACACT TGTCCTCCCTC CATACTACAT AACFPCCATG TTCTTTATCC ATTAATTTTC
[
  1 1111111111 1111111111 1111111111 1111111111 1111111111 1111111111 1111111111 ]
[
  8888888889 9999999990 0000000001 1111111112 2222222223 3333333334 4444444445 5555555556 ]
[
  1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 AACCCGGGCTA TACACCTCTC CACCCCTCAC CCGCCTCCAG AGGGTAACCG AAGCAATGAA CCTAGGAATA TTCACACACA
CaCB_L06721_1aa AACCCGGGCTA TACACCTCTC CACCCCTCAC CCGCCTCCAG AGGGTAACCG AAGCAATGAA CCTAGGAATA TTCACACACA
CcCR_AY198171_1 AACCCGGGCTA TACCCCTCCC CGCCACTCAC CCTCTCCAG AGAACTACCG AGCCAATGAA CCTAGGAATA TTCACACACT
CcCR_AY198154_1 AACCCGGGCTA TACCCCTCCC CGCCACTCAC CCTCTCCAG AGAACTACCG AGCCAATGAA CCTAGGAATA TTCACACACT
CmHap01CRcvvanr ---GGGCTA TACACCTCCA CACCCCTCAC CTGCCTCCAG AGAACAATCG AGACAATGAA CCTAGGAATA TTCACATACC
CmHap02CRcvvanr ---GGGCTA TACACCTCCA CACCCCTCAC CTGCCTCCAG AGAACAATCG AGACAATGAA CCTAGGAATA TTCACATACC
CtCR_DQ020474_1 ---GGGCTA TACACCTCCA CACCCCTCAC CTGCCTCCAG AGAACAATCG AGACAATGAA CCTAGGAATA TTCACATACC
CtCR_DQ020460_1 ---GGGCTA TACACCTCCA CACCCCTCAC CTGCCTCCAG AGAACAATCG AGACAATGAA CCTAGGAATA TTCACATACC
ArenariaCRorigi AACCCGGGCTA TACCCCTCCC TCCCA-CAC CCACCTCCAG AGAACAACCG AGACAATGAA CCTAGGAAT TTCACACACT
[
  1111111111 1111111111 1111111111 1111111112 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 ]
[
  6666666667 7777777778 8888888889 9999999990 0000000001 1111111112 2222222223 3333333334 ]
[
  1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 CTGTACTAAA CCCATCAACT TGTTAGGATT ATACATTA-A AACTCTCTAA AGC-GTACGG CAGTGCCTTA ACACACGCCA
CaCB_L06721_1aa CTGTACTAAA CCCATCAACT TGTTAGGATT ATACATTA-A AACTCTCTAA AGC-GTACGG CAGTGCCTTA ACACACGCCA
CcCR_AY198171_1 CTGTACTAAA CCCATCAAACT TGTTAGGATT ATACAT-ACA AACTCTCTAAA A-T-GTACGG CAGTGCCTTA ACACACACCA
CcCR_AY198154_1 CTGTACTAAA CCCATCAAACT TGTTAGGATT ATACAT-ACA AACTCTCTAAA A-T-GTACGG CAGTGCCTTA ACACACACCA
CmHap01CRcvvanr ACGTACTAAA CCCATCAACT TGCTAGAATT ATACATAACA AACCTTCGAA AGT-GTACGG CAGTGCCTTA ACACACGCTA
CmHap02CRcvvanr ACGTACTAAA CCCATCAACT TGCTAGAATT ATACATAACA AACCTTCGAA AGT-GTACGG CAGTGCCTTA ACACACGCTA
CtCR_DQ020474_1 ---
CtCR_DQ020460_1 ---
ArenariaCRorigi TGTACTAAA CCCAT-ACCT CACTAGGATT ATGCAT-AGA AACTCTCTGA TTTAGCACGG CAGTGCCTTA ACACACACTA
[
  2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 2222222222 3333333333 3333333333 ]
[
  4444444445 5555555556 6666666667 7777777778 8888888889 9999999990 0000000001 1111111112 ]
[
  1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 TGATTTGGTTT AAGTGCAGAC AGTTCGAAA- ACTCTCGAAG TGCACACCAG TCGT--ACC AGGTTATTTA TTAATCGGAC
CaCB_L06721_1aa TGATTTGGTTT AAGTGCAGAC AGTTCGAAA- ACTCTCGAAG TGCACACCAG TCGT--ACC AG--
CcCR_AY198171_1 TGAAATGGTCT AAGTACAAC AGTTCGAAA- TCTCTGAAA C-CATACGAG ACGT--ACC AGGTT--
CcCR_AY198154_1 TGAAATGGTCT AAGTACAAC AGTTCGAAA- TCTCTGAAA C-CATACGAG ACGT--ACC AGGTT--
CmHap01CRcvvanr TGAAATGGTCT AAGTGCAGAC AGTTCGAAA- CTCT- GAAG TGCACACCAG TCGT--ACC AGGTTATTTA TTAATCGGAC
CmHap02CRcvvanr TGAAATGGTCT AAGTGCAGAC AGTTCGAAA- CTCT- GAAG TGCACACCAG TCGT--ACC AGGTTATTTA TTAATCGGAC
CtCR_DQ020474_1 ---
CtCR_DQ020460_1 ---
ArenariaCRorigi TGCTTAGTCT AAGTGCATAC GGATCCAAA TCTCTCGCA TACACACAAG -CGTCGGACC AGGTTATTTA TTAGTCGGAC
[
  3333333333 3333333333 3333333333 3333333333 3333333333 3333333333 3333333333 3333333333 ]
[
  2222222223 3333333334 4444444445 5555555556 6666666667 7777777778 8888888889 9999999990 ]
[
  1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 TCCTCACGTG AAATCAGCAA CCCGCGGTAA GTAATGTCT GCGTACTAG CTTACAGGCC ATTCCTTCCC CCTAAACCC-
CaCB_L06721_1aa ----- --TAATGTCT GCGTACTAG CTTACAGGCC ATTCCTTCCC CCTAAACCC-
CcCR_AY198171_1 -----
CcCR_AY198154_1 -----
CmHap01CRcvvanr TCCTCACGTG AAATCAGCAA CCCGCGGTAA GTAATGTCT GCGTACTAG CTTACAGGCC ATTCCTTCCC CCTAAACCC-
CmHap02CRcvvanr TCCTCACGTG AAATCAGCAA CCCGCGGTAA GTAATGTCT GCGTACTAG CTTACAGGCC ATTCCTTCCC CCTAAACCC-
CtCR_DQ020474_1 -----
CtCR_DQ020460_1 -----
ArenariaCRorigi TCCTCACGTG AAATCAGCAA CCCGCGGTAG ATAATGTCT GCGTACTAG CTTACAGGCC ATTCCTTCCC CCTAAACCC-
[
  4444444444 4444444444 4444444444 4444444444 4444444444 4444444444 4444444444 4444444444 ]
[
  0000000001 1111111112 2222222223 3333333334 4444444445 5555555556 6666666667 7777777778 ]
[
  1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 TAGCACAACT TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAGTA CTCATAACTT GCTCTTTACG
CaCB_L06721_1aa TAGCACAACT TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAGTA CTCATAACTT GCTCTTTACG
CcCR_AY198171_1 -----
CcCR_AY198154_1 -----
CmHap01CRcvvanr TAGCACAACT TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG
CmHap02CRcvvanr TAGCACAACT TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG
CtCR_DQ020474_1 TAACACAACCT TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG
CtCR_DQ020460_1 TAACACAACCT TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG
ArenariaCRorigi TAGCACAACT TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAC TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG

```

```

[ 4444444444 4444444445 5555555555 5555555555 5555555555 5555555555 5555555555 5555555555 5555555555 ]
[ 8888888889 9999999990 0000000001 1111111112 2222222223 3333333334 4444444445 5555555556 ]
[ 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 AATACATCTG GTTGGCTATA TCTCACCATT TTCGTCCGTC ATCGCGGCAT TCCAAAAATC TTATACTTTT GGTTCCTTTT
CaCB_L06721_1aa AATACATCTG GTTGGCTATA TCTCACCATT TTCGTCCGTC ATCGCGGCAT TCCAAAAATC TTATACTTTT GGTTCCTTTT
CcCR_AY198171_1 -----
CcCR_AY198154_1 -----
CmHap01Crcvvanr AATACATCTG GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTC ATCGCGGCAT TCCAAAAATC TTATACTTTT GGTTCCTTTT
CmHap02Crcvvanr AATACATCTG GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTC ATCGCGGCAT TCCAAAAATC TTATACTTTT GGTTCCTTTT
CtCR_DQ020474_1 AATACATCTG GTTGGCTATA TCTCACCATT TTCGTCCGTC ATCGCGGCAT TCCAAAAATC TTATACTTTT GGTTCCTTTT
CtCR_DQ020460_1 AATACATCTG GTTGGCTATA TCTCACCATT TTCGTCCGTC ATCGCGGCAT TCCAAAAATC TTATACTTTT GGTTCCTTTT
ArenariaCRorigi AATACATCTG GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTC ATCGCGGCAT CCTTAATTCF TATACTTTTG GTTCCCTTTT

[ 5555555555 5555555555 5555555555 5555555555 6666666666 6666666666 6666666666 6666666666 6666666666 ]
[ 6666666667 7777777778 8888888889 9999999990 0000000001 1111111112 2222222223 3333333334 ]
[ 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 TTTT-T-GGG GGTCTTCACA GGTGGCCAC CCAGCGCAAC GGGTAAATAC AATCTAAGAC CTGAACATCT CGTGGCTTGC
CaCB_L06721_1aa TTTT-T-GGG GGTCTTCACA GGTGGCCAC CCAGCGCAAC GGGTAAATAC AATCTAAGAC CTGAACATCT CGTGGCTTGC
CcCR_AY198171_1 -----
CcCR_AY198154_1 -----
CmHap01Crcvvanr TTTT-T-GGG GGTCTTCACA GGTGGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGIGCATCT CATGGCTTGC
CmHap02Crcvvanr TTTT-T-GGG GGTCTTCACA GGTGGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGIGCATCT CATGGCTTGC
CtCR_DQ020474_1 TTTT-T-GGG GGTCTTCACA GGTGGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGIGCATCT CATGGCTTGC
CtCR_DQ020460_1 TTTT-T-GGG GGTCTTCACA GGTGGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGIGCATCT CATGGCTTGC
ArenariaCRorigi TTTT-T-GGG G-TCTT--CA GGCAGCCCTC CCAGTGAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGIGCATCT CATGGCTTGC

[ 6666666666 6666666666 6666666666 6666666666 6666666666 6666666666 6666666667 7777777777 7777777777 ]
[ 4444444445 5555555556 6666666667 7777777778 8888888889 9999999990 0000000001 1111111112 ]
[ 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 GGTCATATTT TTGGCCCTCA GGAG-----
CaCB_L06721_1aa GGTCATATTT TTGGCCCTCA GGAG-----
CcCR_AY198171_1 GGCCCT-TATT TTGGCCCTCA GCGGTACTCA AATGAGACGG TTTCAAAGTGT TTGGGGAATC ATATCAACAC TGATGCACCT
CcCR_AY198154_1 GGCCCT-TATC TTGGCCCTCA GCGGTACTCA AATGAGACGG TTTCAAAGTGT TTGGGGAATC ATATCAACAC TGATGCACCT
CmHap01Crcvvanr GGCCCT-TATT TTGGCCCTCA GCGGTACTGT AATGAGACGG TTTCAAAGTGT TTGGGGAATC ATATCAACAC TGATGCACCT
CmHap02Crcvvanr GGCCCT-TATT TTGGCCCTCA GCGGTACTGT AATGAGACGG TTTCAAAGTGT TTGGGGAATC ATATCAACAC TGATGCACCT
CtCR_DQ020474_1 GGCCCT-ATAT CTGGCCCTCA GCGGTACTCT AATGAGACGG TTTCAAAGTGT TTGGGGAATC ATATCAACAC TGATGCACCT
CtCR_DQ020460_1 GGCCCT-ATAT CTGGCCCTCA GCGGTACTCT AATGAGACGG TTTCAAAGTGT TTGGGGAATC ATATCAACAC TGATGCACCT
ArenariaCRorigi GTCC-TATT TTGGCCCTCA GGAATACTGT AATGAGACGG TTTCAAAGTGT TTGGGGAATC ATATCAACAC TGATGCACCT

[ 7777777777 7777777777 7777777777 7777777777 7777777777 7777777777 7777777777 7777777777 7777777777 ]
[ 2222222223 3333333334 4444444445 5555555556 6666666667 7777777778 8888888889 9999999990 ]
[ 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 TGTTTATACG TTGGTTATGG CCTCCCGCA AGCTGGCTAC ATGCCATTTT TTAATGAATG CTGTGGGGAC ATGATTTTTC
CaCB_L06721_1aa -----
CcCR_AY198171_1 TGCTTTGAC TTGGTTATGG CTCCCGCGCA AGCTGGCTAC ATGCCATTTT TTAATGAATG CTGTGGGGAC ATGATTTTTC
CcCR_AY198154_1 TGCTTTGAC TTGGTTATGG CTCCCGCGCA AGCTGGCTAC ATGCCATTTT TTAATGAATG CTGTGGGGAC ATGATTTTTC
CmHap01Crcvvanr TGTTTATACG TTGGTTATGG CCTCCCGCA AGCTGGCTAC ATGCCATTTT TTAATG-----
CmHap02Crcvvanr TGTTTATACG TTGGTTATGG CTCCCGCGCA AGCTGGCTAC ATGCCATTTT TTAATG-----
CtCR_DQ020474_1 TGTTTATACG TTGGTTATGG CTCCCGCGCA AGCTGGCTAC ATGCCATTTT TT-----
CtCR_DQ020460_1 TGTTTATACG TTGGTTATGG CTCCCGCGCA AGCTGGCTAC ATGCCATTTT TT-----
ArenariaCRorigi TGTTTATACG CTGGTTATGG CTCCCGCGCA AGCTGGCTAC ATGCCATTTT TTAATGAATG CTGTGGGGAC ATGATTTTTC

[ 8888888888 8888888888 8888888888 8888888888 8888888888 8888888888 8888888888 8888888888 8888888888 ]
[ 0000000001 1111111112 2222222223 3333333334 4444444445 5555555556 6666666667 7777777778 ]
[ 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 AATTTTTCAC TTCTCTAAT TTCTTAAACA ACACCTAGTAA TTTCAGCTA AATTTAAACT GTATTTTCAT TACACATTTT
CaCB_L06721_1aa -----
CcCR_AY198171_1 AATTTTTCAC TTCTCTAAT TTCTTAAACA ACACCTAGTAA TTTCAGCTA AATTTAAACT GTATTTTCAT TACACATTTT
CcCR_AY198154_1 AATTTTTCAC TTCTCTAAT TTCTTAAACA ACACCTAGTAA TTTCAGCTA AATTTAAACT GTATTTTCAT TACACATTTT
CmHap01Crcvvanr -----
CmHap02Crcvvanr -----
CtCR_DQ020474_1 -----
CtCR_DQ020460_1 -----
ArenariaCRorigi AATTTTTCAC TTCTCTAAT TTCTTAAACA ACACCTAGTAA TTTCAGCTA AATTTAAACT GTATTTTCAT TACACATTTT

[ 8888888888 8888888888 9999999999 9999999999 9999999999 9999999999 9999999999 9999999999 9999999999 ]
[ 0000000001 1111111112 2222222223 3333333334 4444444445 5555555556 6666666667 7777777778 ]
[ 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 AATTTTTCAC TTCTCTAAT TTCTTAAACA ACACCTAGTAA TTTCAGCTA AATTTAAACT GTATTTTCAT TACACATTTT
CaCB_L06721_1aa -----
CcCR_AY198171_1 TAT-TT-GTG TATTTTTTAT ACGTTATCGG CACTGAAATT ACATTAATAA AACAACTACT AAACGTCGAC GTTTCATCTAT
CcCR_AY198154_1 TAT-TT-GTG TATTTTTTAT ACGTTATCGG CACTGAAATT ACATTAATAA AACAACTACT AAACGTCGAC GTTTCATCTAT
CmHap01Crcvvanr -----
CmHap02Crcvvanr -----
CtCR_DQ020474_1 -----
CtCR_DQ020460_1 -----
ArenariaCRorigi TATCTTCGGG T-CTTCGCAC GT-TGTGTAG CACTGAAATT ACATT---AA AACAA-CACC CAC-----

[ 9999999999 9999999999 9999999999 9999999999 1 1111111111 1111111111 1111111111 1111111111 ]
[ 6666666667 7777777778 8888888889 9999999990 0000000001 1111111112 2222222223 3333333334 ]
[ 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpina_40000000 AACAAAAATC CCTTACCAAT AAAGGAAACT CTCCTACAAA AACAAAAATA CAACAAACAA CAACAAACAA CAACAAACAA
CaCB_L06721_1aa -----
CcCR_AY198171_1 CCGAACAATA -----
CcCR_AY198154_1 CCGAACAATA -----
CmHap01Crcvvanr -----
CmHap02Crcvvanr -----
CtCR_DQ020474_1 -----
CtCR_DQ020460_1 -----
ArenariaCRorigi -----

```

```

[ 111111111 111111111 111111111 111111111 ]
[ 000000000 000000000 000000000 000000000 ]
[ 444444444 555555556 666666667 777777778 ]
[ 1234567890 1234567890 1234567890 1234567890 ]
Alpha_4000000 AACAAACAAA CAAACAAACA AACAAACAAA CAAATACCC
CaCB_L06721_1aa -----
CcCR_AY198171_1 -----
CcCR_AY198154_1 -----
CrHap01CRcvvanr -----
CrHap02CRcvvanr -----
CTCR_DQ020474_1 -----
CTCR_DQ020460_1 -----
ArenariaCRorigi -----

```

## Anexo 3

### Secuencias completas de los haplotipos de *Calidris mauri* presentes en Bahía Santa María, Sinaloa, México.

#### CmHap01

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTTAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTAGC	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTACTACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

#### CmHap02

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACCACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTTAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTAGC	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTACTACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

#### CmHap03

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAACCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTTAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTAGC	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTACTACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

#### CmHap04

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTTAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTAGC	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGTCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTACTACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

#### CmHap05

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTTAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTAGC	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTACTACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTATT	TAATG			

**CmHap06**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGGA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTFAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAATACAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TTCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACCTT	GTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap07**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTFAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAATACAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TTCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACCTT	GTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap08**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAACCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TFAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTFAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAATACAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TTCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACCTT	GTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap09**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTFAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAATACAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAAACGGT	TTCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACCTT	GTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap10**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTFAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAATACAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TTCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACCTT	GTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap11**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATTCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTFAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAGGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAATACAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCTATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTTACTGA	ATGAGACGGT	TTCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACCTT	GTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap12**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCTTTCC CCCTAAACCC TAGCACAAC  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGG  
 GGTCTTACAG GGTTCGCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap13**

GGGCTATACA CCTTCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCTTTCC CCCTAAACCC TAGCACAAC  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGG  
 GGTCTTACAG GGTTCGCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAGACGGT TTCAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTATT TAATG

**CmHap14**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAGTCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCTTTCC CCCTAAACCC TAGCACAAC  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGG  
 GGTCTTACAG GGTTCGCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAGACGGT TTCAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap15**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAATAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCTTTCC CCCTAAACCC TAGCACAAC  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGG  
 GGTCTTACAG GGTTCGCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap16**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAACCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCTTTCC CCCTAAACCC TAGCACAAC  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGG  
 GGTCTTACAG GGTTCGCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap17**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCTTTCC CCCTAAACCC TAGCACAAC  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGG  
 GGTCTTACAG GGTTCGCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAGACGGT TTCAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTATT TAATG

**CmHap18**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGGGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATFATAC ATAACAAACC CTCGAAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTPTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAGACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCATTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap19**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATFATAC ATAACAAACC CTCGAAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTPTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCTTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAGACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap20**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATFATAC ATAACAAACC CTCGAAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGATAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTPTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAGACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap21**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CACTACTAGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATFATAC ATAACAAACC CTCGAAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTPTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTATT TAATG

**CmHap22**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATFATAC ATAATAAACC CTCGAAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAGGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTPTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap23**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATTCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATFATAC ATAACAAACC CTCGAAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGGCTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTPTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC CTGTGCATCT CATGCTTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap24**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC TTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATPCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap25**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATPCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC TTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap26**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATPCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAGCAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap27**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATPCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAGACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap28**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATPCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAAAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAAACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap29**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATPCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTTTAAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTCTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTTACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTCC CCCTAAACCC TAGCACAACCT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTGTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGGGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTTACTGA ATGAGACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACTTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap30**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATFCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTFTAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTTT GAGGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTFACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTTCC CCTTAAACCC TAGCACAACT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTFACTGA ATGAGACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACCTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap31**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTAACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATFCA CATAACCAGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTFTAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTFACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTTCC CCTTAAACCC TAGCACAACT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTFACTGA ATGAAACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACCTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap32**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATFCA CACACCAGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTFTAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTFACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTTCC CCTTAAACCC TAGCACAACT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTFACTGA ATGAGACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACCTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap33**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATFCA CACACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTFTAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTFACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTTCC CCTTAAACCC TAGCACAACT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTFACTGA ATGAGACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACCTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap34**

GGGCTATACA CCTTCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGGGAC AATGAACCTA GGAATATFCA CATACTACGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTFTAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTFACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTTCC CCTTAAACCC TAGCACAACT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTFACTGA ATGAGACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACCTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap35**

GGGCTATACA CCTCCACACC CCTCACCTGC CTCCAGAGAA CAATCGAGAC AATGAACCTA GGAATATFCA CACACCAGT  
 ACTAAACCCA TCAACTTGCT AGAATTATAC ATAACAAACC CTCGAAAGTG TACGGCAGTG CTFTAACACA CGCTATGAAT  
 GGTCTAAGTG CAGACAGTTC GAAAACCTTT GAAGTGCACA CCAGTCGTAC CAGGTTATTT ATTAATCGAG CTCCTCACGT  
 GAAATCAGCA ACCCGGCGTA AGTAATGTCC TGCGTFACTA GCTTCAGGCC CATTCCTTTCC CCTTAAACCC TAGCACAACT  
 TGCTCTTTTG CGCCTCTGGT TCCTATGTCA GGGCCATAAA TAGGTTAATA CTCATAACTT GCTCTTTACG AATACATCTG  
 GTTGGCTATA TATCACCATT TTCGTCCGTG ATCGCGGCAT TCCAAAATTC TTATACTTTT GGTTCCTTTT TTTTTGGGG  
 GGTCTTCACA GGTTCGCCCTC CCAGCGCAAC GGGTGAATAC AATCTAAGAC CTGTGCATCT CATGCGTTGC GGCCTTATTT  
 TGGCCCTCAG GCGTFACTGA ATGAAACGGT TTCAAGTGTT TGGGGAATCA TATCAACACT GATGCACCTT GTTTTACACT  
 TGGTTATGGC CTCCCCGCAA GCAGCGTTCA TGCCACTGTT TAATG

**CmHap36**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATFCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTAAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACCT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCATATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAAAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTFACTGA	ATGAGACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap37**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATFCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTAAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACCT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCATATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTFACTGA	ATGAAACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap38**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATFCA	CATACCACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTAAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACCT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCATATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTFACTGA	ATGAAACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap39**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATFCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTAAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACCT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCATATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCCTCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTFACTGA	ATGAGACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap40**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATFCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTAAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACCT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCATATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATAT
TGGCCCTCAG	GCGTFACTGA	ATGAGACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCGTTCA	TGCCACTGTT	TAATG			

**CmHap41**

GGGCTATACA	CCTCCACACC	CCTCACCTGC	CTCCAGAGAA	CAATCGAGAC	AATGAACCTA	GGAATATFCA	CATACTACGT
ACTAAACCCA	TCAACTTGCT	AGAATTATAC	ATAACAAACC	CTCGAAAGTG	TACGGCAGTG	CTTAAACACA	CGCTATGAAT
GGTCTAAGTG	CAGACAGTTC	GAAAACCTCT	GAAGTGCACA	CCAGTCGTAC	CAGGTTATTT	ATTAATCGAG	CTCCTCACGT
GAAATCAGCA	ACCCGGCGTA	AGTAATGTCC	TGCGTTACTA	GCTTCAGGCC	CATTCTTTCC	CCCTAAACCC	TAGCACAACCT
TGCTCTTTTG	CGCCTCTGGT	TCCATATGTCA	GGGCCATAAA	TAGGTTAATA	CTCATAACTT	GCTCTTTACG	AATACATCTG
GTTGGCTATA	TATCACCATT	TTCGTCCGTG	ATCGCGGCAT	TCCAAAATTC	TTATACTTTT	GGTTCCTTTT	TTTTTTGGGG
GGTCTTCACA	GGTTGCCCTC	CCAGCGCAAC	GGGTGAATAC	AATCTAAGAC	CTGTGCATCT	CATGCGTTGC	GGCCTTATTT
TGGCCCTCAG	GCGTFACTGA	ATGAGACGGT	TCCAAGTGTT	TGGGGAATCA	TATCAACACT	GATGCACTTT	GTTTTTACACT
TGGTTATGGC	CTCCCCGCAA	GCAGCATFCA	TGCCACTGTT	TAATG			

## Anexo 4

### Índices de diversidad molecular para los grupos empleados en las comparaciones pareadas del análisis de varianza molecular

Grupo	n	nH	H	$\pi$
<b>Sexo</b>				
M	92	28	0.7659 +/- 0.0473	0.0028 +/- 0.0018
H	86	30	0.8205 +/- 0.0423	0.0031 +/- 0.0019
<b>Temporada</b>				
2000	92	29	0.7365 +/- 0.0512	0.0026 +/- 0.0017
2001	83	30	0.8531 +/- 0.0370	0.0033 +/- 0.0020
<b>Temporada y sexo</b>				
2000 M	46	17	0.7043 +/- 0.0754	0.0027 +/- 0.0017
2001 M	44	23	0.8499 +/- 0.0529	0.0039 +/- 0.0024
2000 H	52	21	0.8160 +/- 0.0537	0.0041 +/- 0.0025
2001 H	39	19	0.8664 +/- 0.0501	0.0039 +/- 0.0023

Grupo	n	nH	H	$\pi$
<b>Meses</b>				
e	93	34	0.7835 +/- 0.0459	0.0032 +/- 0.0020
f	34	17	0.8503 +/- 0.0577	0.0037 +/- 0.0023
m	26	11	0.7846 +/- 0.0806	0.0032 +/- 0.0021
<b>Meses - Sexo</b>				
e-M	47	20	0.7410 +/- 0.0709	0.0030 +/- 0.0019
f-M	18	12	0.8954 +/- 0.0653	0.0043 +/- 0.0026
m-M	15	7	0.7810 +/- 0.1016	0.0032 +/- 0.0021
e-H	44	20	0.8129 +/- 0.0603	0.0032 +/- 0.0020
f-H	16	10	0.8250 +/- 0.0976	0.0031 +/- 0.0020
m-H	11	6	0.8000 +/- 0.1138	0.0032 +/- 0.0022

Grupo	n	nH	H	$\pi$
<b>Hábitat</b>				
PL	45	17	0.7374 +/- 0.0715	0.0027 +/- 0.0018
G	76	30	0.8568 +/- 0.0380	0.0039 +/- 0.0023
T	41	20	0.7427 +/- 0.0765	0.0036 +/- 0.0022
<b>Hábitat - Sexo</b>				
PL-M	22	9	0.7489 +/- 0.0945	0.0028 +/- 0.0019
PL-H	20	9	0.7053 +/- 0.1114	0.0024 +/- 0.0016
G-M	41	21	0.8634 +/- 0.0506	0.0036 +/- 0.0022
G-H	29	13	0.7956 +/- 0.0745	0.0038 +/- 0.0023
T-M	22	11	0.7143 +/- 0.1080	0.0037 +/- 0.0023
T-H	19	11	0.7895 +/- 0.0995	0.0035 +/- 0.0022
<b>Habitat - Temporada</b>				
PL 2000	18	10	0.8105 +/- 0.0927	0.0030 +/- 0.0020
PL 2001	26	11	0.7108 +/- 0.0960	0.0026 +/- 0.0017
G 2000	26	11	0.7477 +/- 0.0882	0.0031 +/- 0.0020
G 2001	51	26	0.9067 +/- 0.0341	0.0043 +/- 0.0025
T 2000	35	17	0.7126 +/- 0.0874	0.0033 +/- 0.0020
<b>Edad</b>				
A	133	38	0.7979 +/- 0.0366	0.0029 +/- 0.0018
J	45	19	0.7606 +/- 0.0685	0.0030 +/- 0.0019
<b>Edad y Habitat</b>				
PL- A	38	15	0.7226 +/- 0.0796	0.0026 +/- 0.0017
PL-J	9	7	0.9167 +/- 0.0920	0.0039 +/- 0.0026
G-A	59	27	0.8679 +/- 0.0412	0.0038 +/- 0.0023
G-J	17	11	0.8456 +/- 0.0886	0.0039 +/- 0.0025
T-A	21	12	0.8238 +/- 0.0837	0.0043 +/- 0.0026
T-J	20	9	0.6526 +/- 0.1225	0.0029 +/- 0.0019
<b>Edad - Temporada</b>				
2000 A	51	20	0.7200 +/- 0.0704	0.0028 +/- 0.0018
2000 J	39	18	0.7409 +/- 0.0779	0.0032 +/- 0.0020
2001 A	76	29	0.8477 +/- 0.0398	0.0038 +/- 0.0022
2001 J	6	5	0.9333 +/- 0.1217	0.0048 +/- 0.0033
<b>Edad y sexo</b>				
M-A	67	26	0.7829 +/- 0.0534	0.0035 +/- 0.0021
M-J	25	11	0.7333 +/- 0.0952	0.0026 +/- 0.0017
H-A	67	30	0.8358 +/- 0.0458	0.0035 +/- 0.0022
H-J	22	11	0.8268 +/- 0.0747	0.0039 +/- 0.0024

## Anexo 5

### Números de acceso al GeneBank de las secuencias empleadas en el análisis filogenético interespecífico

<b>Especie</b>	<b>GeneBank</b>
<i>C. alpina</i>	L06721
<i>C. alpina</i>	L06723
<i>C. alpina</i>	L06724
<i>C. alpina</i>	L06722
<i>C. alpina</i>	L06750
<i>C. alpina</i>	L06735
<i>C. alpina</i>	L06741
<i>C. alpina</i>	L06748
<i>C. alpina</i>	L06734
<i>C. alpina</i>	L06739
<i>C. alpina</i>	L06745
<i>C. alpina</i>	L06742
<i>C. alpina</i>	L06744
<i>C. alpina</i>	L06738
<i>C. alpina</i>	L06736
<i>C. alpina</i>	L06730
<i>C. alpina</i>	L06743
<i>C. alpina</i>	L06740
<i>C. alpina</i>	L06737
<i>C. alpina</i>	L06733
<i>C. alpina</i>	L06732
<i>C. alpina</i>	L06731
<i>C. alpina</i>	L06729
<i>C. alpina</i>	L06749
<i>C. alpina</i>	L06726
<i>C. alpina</i>	L06728
<i>C. alpina</i>	L06755
<i>C. alpina</i>	L06754
<i>C. alpina</i>	L06753
<i>C. alpina</i>	L06752
<i>C. alpina</i>	L06751
<i>C. alpina</i>	L06747
<i>C. alpina</i>	L06746
<i>C. alpina</i>	L06727
<i>C. alpina</i>	L06725

<b>Especie</b>	<b>GeneBank</b>
<i>C. canutus</i>	AY198171
<i>C. canutus</i>	AY198170
<i>C. canutus</i>	AY198169
<i>C. canutus</i>	AY198168
<i>C. canutus</i>	AY198167
<i>C. canutus</i>	AY198166
<i>C. canutus</i>	AY198165
<i>C. canutus</i>	AY198164
<i>C. canutus</i>	AY198163
<i>C. canutus</i>	AY198162
<i>C. canutus</i>	AY198161
<i>C. canutus</i>	AY198160
<i>C. canutus</i>	AY198159
<i>C. canutus</i>	AY198158
<i>C. canutus</i>	AY198157
<i>C. canutus</i>	AY198156
<i>C. canutus</i>	AY198155
<i>C. canutus</i>	AY198154
<i>C. canutus</i>	AY198153
<i>C. canutus</i>	AY198152
<i>C. canutus</i>	AY198151
<i>C. canutus</i>	AY198150
<i>C. canutus</i>	AY198149
<i>C. canutus</i>	AY198148
<i>C. canutus</i>	AY198147
<i>C. canutus</i>	AY198146
<i>C. canutus</i>	AY198145
<i>C. canutus</i>	AY198144
<i>C. canutus</i>	AY198143
<i>C. canutus</i>	AY198142
<i>C. canutus</i>	AY198141
<i>C. canutus</i>	AY198140
<i>C. canutus</i>	AY198139
<i>C. canutus</i>	AY198138
<i>C. canutus</i>	AY198137
<i>C. canutus</i>	AY198136
<i>C. canutus</i>	AY198135
<i>A. Interpres</i>	L20136

