

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

**“Diversidad y estructura genética de las especies
de mangle *Avicennia germinans* (L. y Stearn,
1958) y *Rhizophora mangle* (L., 1753), en el litoral
del Estado de Sinaloa, México”**



TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO
DE:

Maestro en Ciencias

PRESENTA

EDUARDO SANDOVAL CASTRO

Ensenada, Baja California, México

Agosto del 2008

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFIA COSTERA

Diversidad y estructura genética de las especies de mangle *Avicennia germinans* (L. y Stearn, 1958) y *Rhizophora mangle* (L., 1753), en el litoral del Estado de Sinaloa, México.

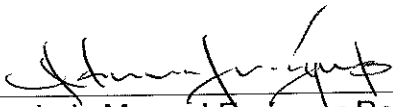
T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA OBTENER EL GRADO DE

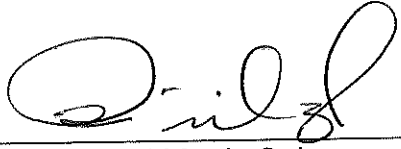
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

EDUARDO SANDOVAL CASTRO


Dr. Luis Manuel Enríquez Paredes
Director

Dr. Eduardo Santamaría del Ángel
Sinodal


Dra. Raquel Muñoz Salazar
Sinodal

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a los mejores maestros que he conocido y he tenido la fortuna de tener en mi vida. Aquellos que han dejado su vida por ver cumplidos mis sueños y objetivos, sembrando en mi el amor, la esperanza y el deseo de vivir y superarme día tras día, superando cualquier obstáculo que se ha cruzado en el camino.

!!! A MIS PADRES !!!

Gracias por compartir sus vivencias, sueños y sabiduría.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Luis M. Enríquez Paredes, por su valiosa cooperación para el desarrollo del presente trabajo. Gracias Luis, por tu amistad y por dedicar parte de tu minúsculo tiempo al estudio de los manglares y por compartir parte de tu valioso conocimiento en genética de poblaciones y las técnicas desarrolladas en el Laboratorio de Ecología Molecular.

Al Dr. Jorge A. Cid Becerra, por motivarme a seguir con mi preparación académica, por su apoyo en la recolección de muestras y por sus comentarios que han propiciado el enriquecimiento del presente trabajo.

Al Dr. Jorge de la Rosa (†), por su apreciable amistad y por apoyarme hasta el último momento.

A mis Sinodales, Dr. Eduardo Santamaría, por dedicar parte de su tiempo en la revisión del trabajo y por sus acertados comentarios y a la Dra. Raquel Muñiz, por su gran apoyo en el análisis e interpretación de los datos.

A mi hermano y hermanas, por su apoyo incondicional y por sus consejos que han permitido fortalecer mis ideales y me han ayudado a resolver los problemas que han surgido en los momentos difíciles.

A la familia y amigos del Laboratorio de Ecología Molecular, que últimamente ha crecido de manera exponencial. Gracias por compartir parte de su tiempo y por hacer el mío más agradable y placentero durante las horas de laboratorio, cubículo y Miki's house.

A mis amigos del posgrado en Oceanografía Costera, especialmente a los que estuvieron siempre hasta el final.

A Bety, Miriam, Jairo y Paúl por su apoyo en el trabajo de campo, durante la recolecta de las muestras.

Al Gobierno del Estado de Sinaloa, por el financiamiento del proyecto "Diagnostico de los Ecosistemas de Manglar del Estado de Sinaloa: Productividad y Estructura Genética" del cual se obtuvieron los recursos para el desarrollo del presente trabajo.

Al Conacyt, por otorgarme la beca no. 201092 que me permitió dedicar tiempo completo al desarrollo del presente trabajo.

A la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California, por darme la oportunidad de formar parte de su escuela y por contribuir favorablemente en gran parte de mi formación académica.

RESUMEN

Los ecosistemas de manglar son ecológica y socio-económicamente importantes, particularmente para los habitantes de la zona costera. Durante los últimos años, gran parte de la cobertura original de los bosques de manglar de todo el mundo ha disminuido considerablemente debido a factores antropogénicos. Esta reducción en la abundancia podría traer como consecuencia una disminución en la diversidad genética, mayor susceptibilidad a enfermedades y cambios ambientales, no sólo de las especies de mangle, sino de la compleja comunidad de organismos que dependen de ellas. Por esta razón, monitorear y mantener los niveles de diversidad genética en sus poblaciones se ha convertido en uno de los principales objetivos de los planes de manejo y conservación de este recurso natural. Una de las alternativas para la conservación de los manglares es la reforestación, estrategia que busca no sólo incorporar nuevos individuos a las poblaciones naturales, sino mantener también el acervo genético de las mismas. En el presente estudio se emplearon marcadores genéticos microsatélites para evaluar la diversidad y la estructura genética en tres bosques de *Rhizophora mangle* y *Avicennia germinans* en el litoral del Estado de Sinaloa (El Jitzámuri, Altata y Teacapán). Esto con el propósito de proponer el número y la ubicación estratégica de viveros de producción de plantas de mangle con fines de reforestación de aquellas áreas perturbadas, conservando además la mayor parte de la variabilidad genética presente en las poblaciones silvestres. El análisis de siete *loci* de microsatélites específicos para *A. germinans* detectó 27 alelos y 46 genotipos, mientras que con el mismo número de microsatélites específicos para *R. mangle* se encontraron 24 alelos y 80 genotipos. En ambas especies se observó un patrón de disminución de la diversidad genética hacia el norte del litoral de Sinaloa, lo que resultó significativo al analizar la varianza molecular entre las localidades muestreadas y evidenció la presencia de estructura genética en ambas especies.. Con base en estos resultados se recomienda, en términos de conservación de la biodiversidad molecular de los manglares del Estado de Sinaloa, el establecimiento de al menos dos viveros para la producción de plantas de *A. germinans* y *R. mangle*, uno ubicado en la porción norte (El Jitzámuri) y el otro, en un punto intermedio entre la porción centro-sur de su litoral (entre Altata y Teacapán).

ABSTRACT

Mangrove ecosystems are ecological and socioeconomically important, particularly for coastal zone communities. Worldwide anthropogenic destruction of large extensions of mangrove forests has been going on during the last years. Such reduction in abundance could also lead to decrease of genetic diversity, not only for mangrove species, but for the complex communities that they sustain, thus increasing susceptibility to diseases and environmental changes. Therefore, monitoring and maintenance of genetic diversity has become one of the main goals for conservation and management of this natural resource. Sinaloa government has started a reforestation program in which the objective is repopulating with individual plants that share their genetic pool with those from wild populations. In order to propose the number and locations of mangrove-seedling nurseries that should be established to restore mangrove abundance at perturbed areas, but also preserving most of the current genetic diversity, this study assessed the genetic diversity and population structure of *Rhizophora mangle* and *Avicennia germinans* forests along Sinaloa coastline. Through the analysis of seven microsatellite *loci*, 27 alleles representing 46 genotypes and 24 alleles representing 80 genotypes were detected in *A. germinans* and *R. mangle*, respectively. In both species genetic diversity was heterogeneously distributed and it decreased as latitude increases. The analysis of molecular variance pointed out the presence of two populations for *A. germinans*, one of them represented by El Jitzámuri (at the northern coast) and the other which included Altata and Teacapán (central-southern coasts). For *R. mangle* each locality was discriminated as a population, but the higher similarity was found between central and southern coasts. In terms of preserving most of the molecular biodiversity of mangrove forest along the coast of Sinaloa, the results of this study suggest that it is recommendable to establish at least two nurseries of *A. germinans* and *R. mangle* seedlings in the reforestation program; one located in the northern coast and other between central and southern coast.

INDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
INDICE	vi
LISTA DE TABLAS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS	11
Objetivo General.....	11
Objetivos Específicos	11
MATERIALES Y MÉTODOS	12
Área de Estudio	12
Recolecta, procesamiento y análisis de las muestras.....	15
Extracción de DNA.....	16
Amplificación de los <i>loci</i> de microsatélites	17
Análisis de Fragmentos.....	19
Análisis de datos	20
Diversidad genética en <i>Avicennia germinans</i>	22
Análisis de la estructura genética para <i>Avicennia germinans</i>	25
Diversidad genética en <i>Rhizophora mangle</i>	27
Análisis de la estructura genética para <i>Rhizophora mangle</i>	30

Distribución de la variabilidad genética de <i>Avicennia germinans</i> y <i>Rhizophora mangle</i> a lo largo del litoral de Sinaloa.....	31
DISCUSIÓN.....	34
Diversidad Genética	34
Estructura Genética.....	39
Consideraciones sobre el manejo del programa de repoblación en Sinaloa.....	42
CONCLUSIONES.....	44
LITERATURA CITADA	45

LISTA DE TABLAS

Tabla I. <i>Loci</i> de microsatélites de <i>A. germinans</i> utilizados para el análisis genético poblacional en el litoral de Sinaloa.....	17
Tabla II. <i>Loci</i> de microsatélites utilizados para el análisis genético poblacional de <i>R. mangle</i> en el litoral de Sinaloa.....	18
Tabla III. Estadísticos descriptivos para cada una de las tres localidades analizadas para determinar la diversidad genética del mangle <i>A. germinans</i> en el litoral de Sinaloa.....	22
Tabla IV. Estadísticos descriptivos de los siete <i>loci</i> de microsatélite analizados para estimar la diversidad genética del mangle <i>A. germinans</i> en el litoral de Sinaloa..	24
Tabla V. Análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico, aplicado bajo dos aproximaciones al modelo de mutación de los microsatélites (IAM y SMM) en los tres bosques del mangle <i>A. germinans</i> analizados en el litoral de Sinaloa, México	25
Tabla VI. Matriz de comparaciones pareadas de la prueba exacta de diferenciación genética aplicada a tres bosques del mangle <i>A. germinans</i> en el litoral de Sinaloa.....	26
Tabla VII. Estadísticos descriptivos para cada una de las tres localidades analizadas para determinar la diversidad genética del mangle <i>R. mangle</i> en el litoral de Sinaloa.....	27

Tabla VIII. Estadísticos descriptivos de los siete <i>loci</i> de microsatélite analizados para estimar la diversidad genética del mangle <i>R. mangle</i> en el litoral de Sinaloa.....	29
Tabla IX. Análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico, aplicado bajo dos aproximaciones al modelo de mutación de los microsatélites (IAM y SMM) en los tres bosques del mangle <i>R. mangle</i> analizados en el litoral de Sinaloa, México	30
Tabla X. Matriz de comparaciones pareadas de la prueba exacta de diferenciación genética aplicada a tres bosques del mangle <i>R. mangle</i> en el litoral de Sinaloa.	31
Tabla XI. Comparación de la diversidad genética detectada en poblaciones núcleo de mangle con aquellas cercanas al límite de su distribución geográfica.....	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de Bahía El Jitzámuri, dentro del sistema lagunar de Agiabampo.	13
Figura 2. Ubicación de Bahía de Altata, dentro del sistema lagunar Altata-Ensenada del Pabellón.....	14
Figura 3. Ubicación del sistema estuarino Teacapán, dentro del sistema lagunar Teacapán-Agua Brava. Sinaloa/Nayarit.	15
Figura 4. Frecuencias alélicas a partir del análisis de los siete <i>loci</i> de microsatélites: AgT4, AgT9, AgT7, AgD13 AgT8 AgD6 y CA_002 analizados en tres bosques del mangle <i>A. germinans</i> , en el litoral de Sinaloa, México.	23
Figura 5. Frecuencias alélicas a partir del análisis de los siete <i>loci</i> de microsatélites: Rm19, Rm21, Rm46, Rm11, Rm41, Rm7 y Rm38 analizados en tres bosques del mangle <i>R. mangle</i> , en el litoral de Sinaloa, México.....	28
Figura 6. Distribución de la diversidad genética en el litoral de Sinaloa.	33

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas de manglar están constituidos principalmente por árboles o matorrales leñosos de mangle que crecen en los márgenes costeros de las regiones tropicales y subtropicales del planeta. Estas especies presentan adaptaciones muy particulares que les permiten desarrollarse en la interfase tierra-océano. Sobresalen entre éstas la fijación mecánica al sustrato inestable, la presencia de neumatóforos que permiten la ventilación de sus raíces mientras están sumergidas y algunos mecanismos especializados para el balance osmótico en el ambiente salino. Sumado a lo anterior, se considera que las especies de mangle son únicas en cuanto a su tipo de reproducción vivípara, la cual les confiere un mayor potencial de dispersión y facilita el establecimiento de su progenie (Tomlinson, 1994).

Pese a que los ecosistemas de manglar están considerados como uno de los más productivos de la biosfera, estos poseen baja diversidad florística debido al reducido número de especies de mangle que lo componen. Sin embargo, como consecuencia de la alta productividad de los ecosistemas de manglar, muchas especies de invertebrados y vertebrados habitan o utilizan temporalmente los recursos de estos ecosistemas, que son propicios para su reproducción o crianza, alimentación, protección y descanso (Tomlinson, 1994). Es por ello que, desde un punto de vista integral, los ecosistemas de manglar representan áreas de gran diversidad biológica.

Muchas especies de peces, crustáceos y moluscos de importancia económica y ecológica dependen de los ecosistemas de manglar durante sus estadios larvales y juveniles los cuales son considerados como fases críticas de su vida. Los manglares constituyen además, el hábitat temporal de especies de aves residentes y migratorias (Mittermeier y Goettsch de Mittermeier, 1992). Aunque la mayoría de las especies que habitan los ecosistemas de manglar son

estacionarias, es importante resaltar que los ecosistemas de manglar son considerados como unos de los más productivos de la biosfera y que transmiten gran parte de sus nutrientes hacia los ecosistemas adyacentes, dando origen a importantes flujos de materia y energía entre los sistemas costeros y marinos (Tovilla-Hernández, 1994).

La distribución de las especies de mangle esta fuertemente influenciada por la temperatura, en este sentido, los bosques de mangle mejor desarrollados se limitan a las regiones tropicales (30° N y 30° S), donde se concentra el mayor porcentaje de las poblaciones humanas y por tanto el mayor desarrollo de infraestructura costera (Hogarth, 1999).

Los ecosistemas de manglar juegan un importante papel de sustento, principalmente, para los habitantes de la zona costera, quienes dependen directamente del manglar como fuente de combustible, alimento, medicina y otras necesidades básicas. Sumado a esto, los manglares son atractivos desde el punto de vista turístico y durante las últimas décadas se han venido promoviendo en ellos diversas actividades ecoturísticas (Hernández-Cornejo *et al.*, 2005).

A pesar de los grandes beneficios que estos sistemas proporcionan, resulta cada vez más difícil evitar el deterioro de los ecosistemas de manglar debido al continuo crecimiento de la población humana y el consecuente desarrollo de la zona costera (López-Portillo y Ecurra, 2002). La intensa actividad humana en la zona costera ha impactado negativamente a las comunidades de manglar con la creación de viviendas, infraestructura hotelera, grandes áreas agrícolas y extensas granjas acuícolas. De acuerdo con López-Portillo y Ecurra (2002), es la falta de conocimiento y de concientización sobre la importancia de dicho ecosistema lo que ha llevado al gradual deterioro de grandes extensiones de manglar.

Registros históricos indican que a nivel global, la extensión original de los ecosistemas de manglar ha disminuido de forma importante, particularmente en el período que comprende de 1980 a 1999, se han reportado pérdidas de alrededor del 35% en cobertura a nivel global (Valiela *et al.*, 2001). Entre los países más afectados, se encuentran aquellos en donde la acuacultura ha presentado su máximo desarrollo (De la Fuente y Carrera, 2005).

De esta forma, se ha identificado para el sureste de Asia una pérdida del 12% de la cobertura de manglar entre el período de 1980 a 1990 (Ong, 1995). En Filipinas, la reducción representó al 72%, (Primavera, 2000), en Tailandia el 55% (Aksornkoae, 1993), en Vietnam, se redujo el 37% de la cobertura original (Spalding *et al.*, 1997). En América, los países más afectados, son Ecuador, con una reducción del 73% y la región del Golfo de Fonseca, con una reducción del 22% (De la Fuente y Carrera, 2005).

En México, la cobertura actual de manglar, está representada por aproximadamente 6600 km² (Flores-Verdugo *et al.*, 1992, CONABIO, 2008). El Instituto Nacional de Ecología (INE, 2005), con datos obtenidos de una revisión bibliográfica de México, estimó una tasa de deforestación anual promedio de 1.1%. De igual forma, con los resultados obtenidos, se calculó que para el año 2025 podría perderse entre el 40% y el 50% de la superficie de manglar actual.

Es importante mencionar que todos los trabajos que sirvieron para calcular las tasas promedio de pérdida se desarrollaron en la costa del Pacífico, principalmente en los Estados de Sinaloa y Nayarit (INE, 2005), entidades en las que, según De la Fuente y Carrera (2005), se ha identificado que la mayor pérdida de cobertura de manglar es producto del desarrollo y operación de la acuacultura de camarón en la región. En este sentido, Ramírez *et al.* (1998) calcularon que de 1970 a 1993 la cobertura de manglar en Nayarit, se redujo en

un 23%, mientras que Ruiz-Luna y Berlanga-Robles (1999), reportaron valores similares para el Estado de Sinaloa entre 1973 y 1997.

Considerando el valor ecológico y económico de los ecosistemas de manglar, así como el efecto que podría tener la reducción en la cobertura de los bosques de mangle sobre la diversidad genética del ecosistema (Maguire *et al.*, 2000b), se ha hecho cada vez más evidente la necesidad de promover medidas para su manejo y conservación.

Los esfuerzos por recuperar a los ecosistemas de manglar es una actividad relativamente reciente que se ha puesto en práctica en países como Puerto Rico, Estados Unidos, Cuba, Malasia, Tailandia, Australia, Filipinas e Indonesia, durante los últimos 20 años, algunos de los resultados han sido favorables, otros alentadores y hay casos que han fracasado (Tovilla-Hernández y Orihuela-Belmonte, 2002).

En México, la restauración de los ecosistemas de manglar es una línea de investigación muy reciente, en la que se han obtenido muy pocos resultados exitosos, esta baja efectividad se atribuye a que ocasionalmente, estos programas se han realizado con fines más bien políticos y no tanto de conservación o restauración (Tovilla-Hernández¹, Herrera-Silveira² com. pers.). De acuerdo con Tovilla-Hernández y Orihuela-Belmonte (2002), los ecosistemas de manglar poseen el potencial para recuperarse de manera natural, siempre y cuando el flujo hidrológico del sistema no sea interrumpido o alterado. Dado que este proceso de recuperación es lento, en la mayoría de los programas de restauración se ha optado por reforestar las áreas afectadas, sembrando directamente en el campo o con plantas crecidas en viveros, buscando con ello acelerar el proceso.

¹El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Tapachula. Laboratorio de Ecología de Manglares y Zona Costera. E-mail: ctovilla@tap-ecosur.edu.mx.

²CINVESTAV-IPN, Unidad Mérida. Depto. De Recursos del Mar. E-mail: jherrera@mda.cinvestav.mx.

La diversidad genética es una característica que les permite a las especies, responder y adaptarse a los cambios en su ambiente. Por ende, la pérdida de diversidad se asocia con una disminución de este potencial, haciendo a las especies más susceptibles a las enfermedades y a los cambios ambientales. Por ello, mantener los niveles de diversidad genética en las poblaciones se ha convertido en uno de los principales objetivos en los planes de manejo de los recursos naturales, sobretodo en aquellos ecosistemas altamente productivos y sujetos a un constante deterioro del hábitat (Bartleson *et al.*, 2003).

Es importante resaltar que, ante este panorama, los programas de conservación de los ecosistemas de manglar a través de técnicas de reforestación, deben buscar mantener sus niveles de diversidad genética. Para ello es imprescindible evaluar, la diversidad genética de la población original y producir plantas en vivero con una alta similitud genética al de la población en la que serán plantadas (Saenger y Siddiqi, 1993, Maguire *et al.*, 2000b, Maguire *et al.*, 2002, Tovilla-Hernández y Orihuela-Belmonte 2002, Jian *et al.*, 2004).

En el presente trabajo se aborda el caso del programa de reforestación de manglares que, en conjunto con organizaciones no gubernamentales e instituciones de investigación, desarrolla actualmente el Gobierno del Estado de Sinaloa en sus costas. Recientemente, dicho programa ha incorporado el uso de marcadores genéticos moleculares para evaluar la diversidad genética y la presencia de estructura genética intraespecífica.

En particular, el estudio emplea *loci* de microsatélites específicos para evaluar la situación de *Rhizophora mangle* y *Avicennia germinans*, especies de mangle con la mayor abundancia y de más fácil manejo para la producción en viveros.

ANTECEDENTES

Avicennia germinans (L. y Stearn 1958) se distribuye en las costas del continente americano, en el Atlántico, desde el norte del Golfo de México (29° 53' N), hasta Espíritu Santo en Brasil (23° S). Por otro lado, en las costas del Pacífico, su distribución va desde Punta Lobos, en México (30° 15' N), hasta el sur de Punta Malpelo, en Perú (3° 40' S) (Tomlinson, 1994).

Es una especie de floración estacional (verano), produce propágulos vivíparos encerrados en una cápsula ovalada y achatada de 2.2 cm y 1.2 g de peso promedio. Los propágulos se arraigan rápidamente a cualquier sustrato, aunque poseen tasas menores de germinación y un menor potencial de dispersión, en relación a *R. mangle* (Tovilla-Hernández y Orihuela-Belmonte, 2002).

Rhizophora mangle (L., 1753) se distribuye en las costas del continente americano, África occidental y en ciertas islas del Pacífico (Fiji, Tonga y Celedonia). En la costa del Atlántico americano, se distribuye desde la península de Florida en Estados Unidos (29°N), hasta Santa Catarina en Brasil (27° 30'S). Por otro lado, su distribución en las costas del Pacífico americano, es similar a la reportada para *A. germinans* (Tomlinson, 1994).

Es una especie de floración continua, durante todo el año, aunque se ha registrado un incremento en la producción de flores al inicio y al final de la época lluviosa, produce propágulos vivíparos de forma alargada, su tamaño es muy variable y presenta un alto potencial de dispersión ya que pueden flotar y permanecer viables por periodos de hasta un año (Tovilla-Hernández y Orihuela-Belmonte, 2002).

El uso de las herramientas moleculares en las especies de mangle, es relativamente reciente, la mayoría de los estudios se han enfocado a las

especies de los géneros de *Avicennia* o *Rhizophora*, los cuales se distinguen por presentar el mayor número de especies y la mayor área de distribución. Además, de ser los más factibles a cultivarse en jardines botánicos, facilitando así, la disponibilidad de material para llevar a cabo los estudios moleculares (Schwarzbach y Ricklefs, 2001).

Los primeros estudios moleculares en especies de mangle, se basaron en el uso de proteínas como marcador molecular, por ejemplo, Goodall y Stoddart (1989), describieron a detalle las técnicas de electroforesis de alozimas aisladas del tejido foliar en especies de *Rhizophora*. Baba *et al.* (1989), mostraron la utilidad del análisis de las alozimas para examinar la diversidad genética en *Rhizophora stylosa*, *Kandelia candel* (*Rhizophoraceae*), *Lumnitzera racemosa* (*Combretaceae*) y *Avicennia marina* (*Avicenniaceae*).

McMillan (1986), investigó mediante alozimas, la estructura genética de las poblaciones de *A. germinans* del Golfo de México, Caribe y el pacífico de Panamá. Mas recientemente, Duke *et al.* (1998), examinaron la estructura genética y la evolución de especies de *Avicennia* en el indo-Pacífico. Ballment *et al.* (1988), examinaron la estructura genética del género *Ceriops* (*Rhizophoraceae*) en el norte de Queenslan, Australia.

Sun *et al.* (1998), evaluaron el flujo genético de *Kandelia candel* (*Rhizophoraceae*). Ge y Sun (1999), usaron además de alozimas, ISSRs (Inter Simple Sequence Repeats) para estudiar la biología reproductiva y la diversidad genética de *Aegicieras corniculatum* (*Myrsinaceae*). Nuñez-Farfán *et al.* (2002), utilizaron alozimas para evaluar la divergencia genética de *R. mangle* en las costas del Pacífico, Atlántico y Caribe de México.

Con el desarrollo tecnológico, se han desarrollado una gran variedad de herramientas moleculares basadas en la estructura del DNA, lo cual ha

permitido examinar la diversidad genética de las poblaciones (Lakshmi *et al.*, 1997). Tal es el caso del estudio que, mediante el análisis de RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA) permitió en *Avicennia marina* caracterizar la diversidad genética y así identificar las fuentes potenciales de germoplasma para la reforestación (Balakrishma, 1995).

Parani *et al.* (1997), mediante el análisis de RAPDs y de RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphism) encontraron diferencias genéticas entre algunas poblaciones de *A. marina*, *A. officinalis* y *A. alba* de la India. RAPDs y RFLPs, también han sido utilizados en estudios de hibridación (Tomlinson, 1994).

Los análisis de secuenciación de DNA son escasos en especies de mangle. Kado *et al.* (2004), utilizaron la secuencia del gen matK del DNA del cloroplasto, para evaluar la estructura genética de tres poblaciones naturales de *Avicennia marina*, *Kandelia candel* y *Lumnitzera racemosa*. Moreno-Medina (2007), analizó la secuencia del gen matK de *A. germinans* y *R. mangle* y no encontró evidencias de estructura genética, en las costas del Estado de Sinaloa, México.

Los microsatélites, son marcadores moleculares que rápidamente se han convertido en una de las herramientas más confiables y fáciles de automatizar para efectuar estudios diversidad y estructura genética de poblaciones. Consisten en secuencias de uno a seis nucleótidos, repetidas en tándem, que se encuentran ampliamente distribuidas y con alta frecuencia en el genoma nuclear de la mayoría de los taxa (Selkoe y Toonen, 2006).

Dentro de las virtudes de éste marcador molecular destaca su fácil manejo en el laboratorio, por lo que es posible hacer múltiples amplificaciones en una sola reacción de PCR y se requiere de pequeñas cantidades de DNA para llevar a cabo su análisis (Goldstein y Schlötterer, 1999).

Los microsatélites se consideran marcadores genéticos selectivamente neutros (insensibles a los cambios ambientales), de naturaleza co-dominante (puede diferenciarse a organismos homocigotos de heterocigotos), alta tasa de mutación y alto grado de polimorfismo, lo que les hace ideales para el estudio de la estructura genética poblacional y los procesos evolutivos asociados con esta (Ying-Chun *et al.*, 2006, Selkoe y Toonen, 2006).

Diversos autores han caracterizado *loci* de microsatélites en especies de mangle. Maguire *et al.* (2000a) para *A. marina*, Rosero-Galindo *et al.* (2002) para *R. mangle*, Teixeira *et al.* (2003) para *A. alba*, Islam *et al.* (2004) para *R. stylosa*, Nettel *et al.* (2005) y Cerón-Sousa *et al.* (2006) para *A. germinans*, Geng *et al.* (2006) para *Aegiceras corniculatum*, Castillo-Cárdenas y Toro-Perea (2007) para *Pelliciera rhizophorae*.

El diseño de estos microsatélites ha permitido el desarrollo de estudios enfocados principalmente, a la evaluación de la diversidad genética y estructura poblacional, por ejemplo Maguire *et al.* (2000b) analizó la diversidad y estructura genética de 14 poblaciones de *A. marina* a lo largo de su distribución geográfica, encontrando altos niveles de polimorfismo y una marcada estructura genética en sus poblaciones.

Giang *et al.* (2003), analizaron 12 poblaciones de *A. marina* en las costas de Vietnam, sus resultados mostraron ser muy similares a los reportados por Maguire *et al.* (2000b). Arnaud-Haond *et al.* (2006) evaluaron la composición genética y los sistemas de apareamiento de *A. marina* en poblaciones de Vietnam, norte de Filipinas y Australia, encontrando una mayor diversidad y menor estructura genética en las poblaciones ubicadas a menores latitudes que aquellas encontradas en las poblaciones cercanas a sus límites de distribución.

En México, no se ha reportado el uso de *loci* de microsatélites en especies de mangle, por lo que el presente estudio representa a uno de los pioneros en considerar a este marcador molecular con el objetivo principal de caracterizar la diversidad genética (alelos, genotipos, heterocigocidad) y determinar si existe evidencia de estructura genética en los bosques de mangle ubicados en el litoral del Estado de Sinaloa, México.

La información aquí generada servirá de apoyo en el programa de reforestación antes mencionado, ya que se plantean alternativas viables de los sitios en que pueden establecerse los viveros para producir plantas de mangle para reforestar las áreas perturbadas, sin alterar la diversidad genética de las poblaciones silvestres.

OBJETIVOS

Objetivo General

Caracterizar la diversidad y el nivel de estructura genética de las especies de mangle *Avicennia germinans* y *Rhizophora mangle* en la costa del Estado de Sinaloa, México, para plantear, con bases genéticas, una estrategia de reforestación en la que se preserve la mayor parte de la variabilidad genética de las poblaciones silvestres.

Objetivos Específicos

- 1) Estimar la diversidad genética de *A. germinans* y *R. mangle*, distribuidas en los ecosistemas de manglar de tres cuerpos acuáticos costeros del Estado de Sinaloa, México.
- 2) Determinar el grado de estructura genética intraspecífica de *A. germinans* y *R. mangle* entre las tres localidades analizadas.
- 3) Proponer, con base en la identidad genética y la conectividad de *A. germinans* y *R. mangle* a lo largo de la costa de Sinaloa, el número y la ubicación estratégica de los viveros del programa de reforestación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

El Estado de Sinaloa se encuentra ubicado en el inicio del corredor costero noroccidental de la República Mexicana, la longitud costera del Estado es de alrededor de 656 km, destacando su elevado número de cuerpos acuáticos costeros que comprenden 157,710 ha. En esta costa se distribuyen cuatro de las cinco especies de mangle reportadas para el Pacífico Mexicano (Contreras, 1993).

Se analizaron muestras de *R. mangle* y *A. germinans*, obtenidas a partir de individuos de tres bosques de mangle distribuidos a lo largo del litoral del Estado de Sinaloa: la región norte (Bahía de El Jitzámuri), centro (Bahía de Altata) y sur (Teacapán).

La Bahía de El Jitzámuri forma parte del sistema lagunar de Agiabampo, localizado entre 26°27' y 26°29'N y entre 109°20' y 109°20'W (Fig. 1), en el norte del Estado de Sinaloa. El sistema lagunar integra a tres cuerpos acuáticos costeros, interconectados entre si y comunicados hacia el Golfo de California mediante una boca de aproximadamente 1500 m de longitud, donde la velocidad de la corriente alcanza una velocidad aproximada a 3 m s⁻¹ (Romero-Sedano *et al.*, 2004).

El Jitzámuri ocupa una superficie aproximada de 28,897 ha, de las cuales 1,938 ha (7%), corresponden al área cubierta por vegetación de manglar (De la Fuente y Carrera, 2005). El clima del lugar es cálido seco con precipitación media anual de 200 a 400 mm y una tasa potencial de evaporación de 2300 mm año⁻¹, presentando amplias variaciones de salinidad a lo largo del año, desde típicamente marinas en la boca hasta 42 en el interior del sistema (Romero-Sedano *et al.*, 2004).

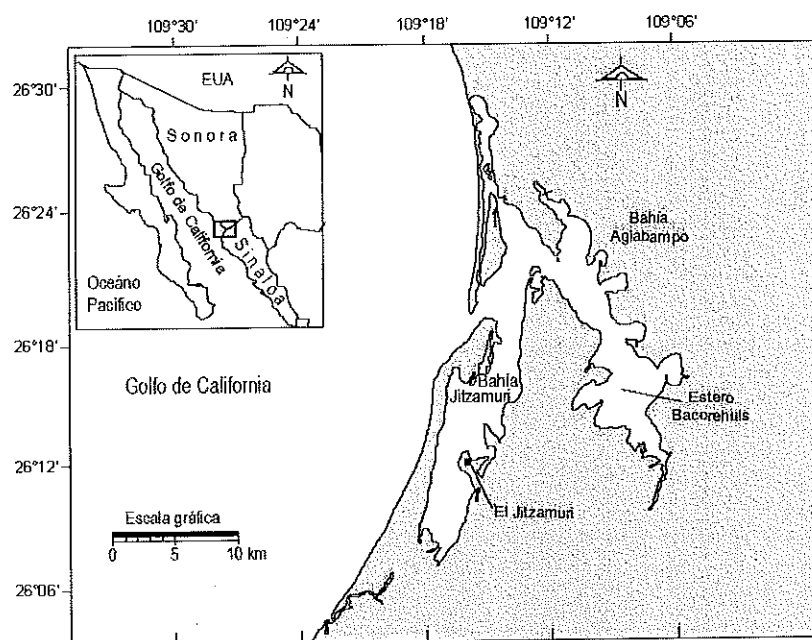


Figura 1. Ubicación de Bahía El Jitzámuri, dentro del sistema lagunar de Agiabampo.

En la parte central del litoral del Estado de Sinaloa, se ubica el sistema lagunar Altata-Ensenada del Pabellón, localizado entre $24^{\circ}20'$ y $24^{\circ}40'N$ y entre $107^{\circ}30'$ y $107^{\circ}58'W$ (Fig. 2). Integrado por las Bahías de Altata y de Ensenada del Pabellón, el sistema cubre una superficie aproximada de 86,429 ha, de las cuales, 11,043 ha (13%) corresponden al área cubierta por vegetación de manglar (De la Fuente y Carrera, 2005).

Altata mantiene una conexión permanente al Océano Pacífico, a través de una somera boca central de menos de 1 m de profundidad. Presenta un importante aporte de agua dulce a través del río Culiacán, el cuál representa una importante fuente de contaminación, producto de la intensa actividad agrícola alrededor del sistema lagunar y de las aguas residuales que la ciudad de Culiacán (750,000 habitantes) descarga hacia dicho río (Green-Ruiz y Páez-Osuna, 2001)

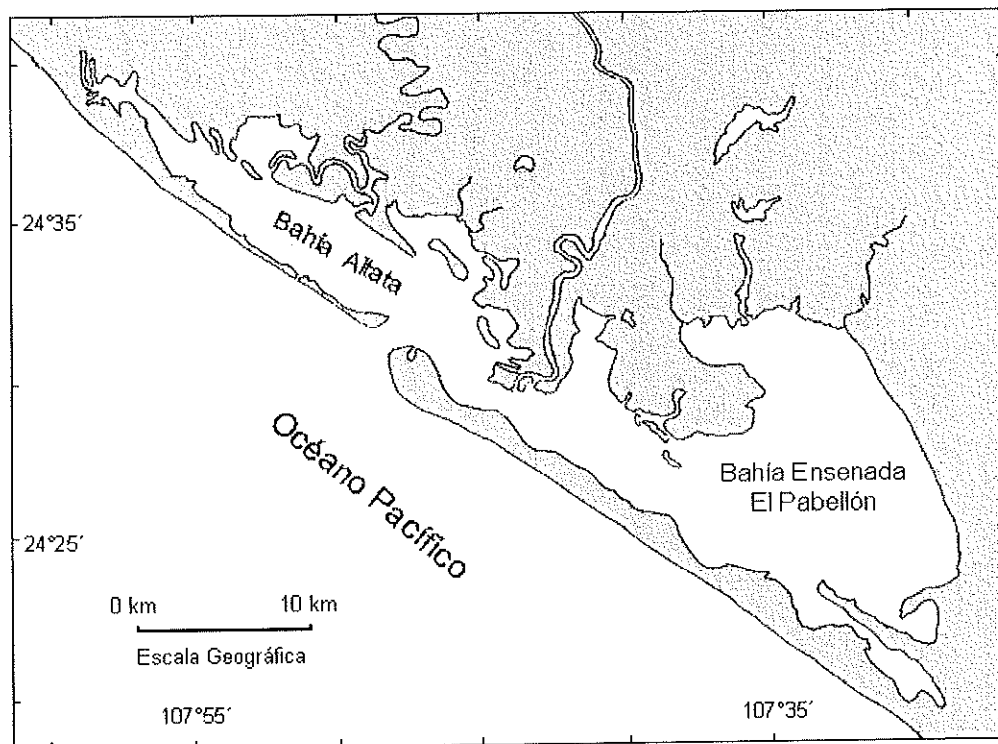


Figura 2. Ubicación de Bahía de Altata, dentro del sistema lagunar Altata-Ensenada del Pabellón.

En la planicie costera norte del Estado de Nayarit y porción sur del Estado de Sinaloa, entre los $22^{\circ}04'$ y $22^{\circ}35'N$ y entre $105^{\circ}20'$ y $105^{\circ}50'W$ (Fig. 3) se ubica el sistema lagunar de Teacapán-Agua Brava, con una superficie aproximada de 150,000 ha de canales de marea, suelos inundados, lagunas costeras y humedales de manglar. Éste complejo lagunar incluye al sistema estuarino de Teacapán, el cual representa al último cuerpo acuático costero hacia el sur del litoral del Estado de Sinaloa y a la laguna de Agua Brava, la cual representa al primer cuerpo acuático costero hacia el norte del litoral del Estado de Nayarit.

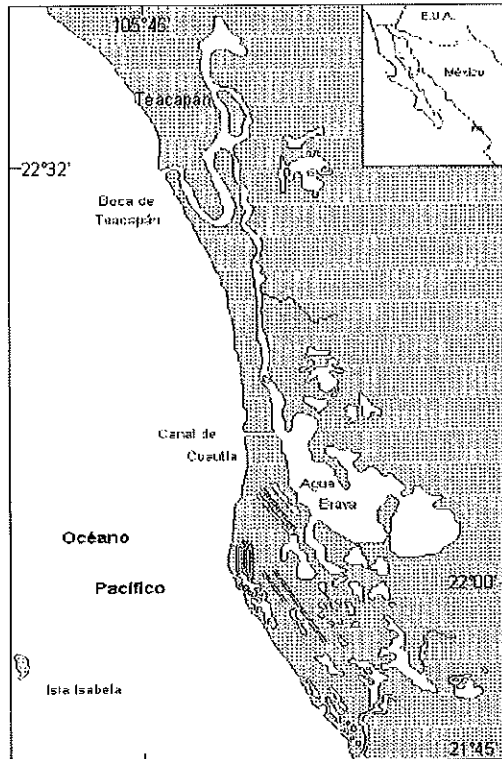


Figura 3. Ubicación del sistema estuarino Teacapan, dentro del sistema lagunar Teacapan-Agua Brava. Sinaloa/Nayarit.

Teacapan presenta una superficie de 39,332 ha, de las cuales 14,842 ha (38%) corresponden al área cubierta por vegetación de manglar (De la Fuente y Carrera, 2005), se comunica con la laguna de Agua-Brava a través de un canal de marea y con el Océano Pacífico a través de una boca de origen natural, recibe agua dulce de los ríos Acaponeta, Cañas, Bejuco y Rosamorada (Flores-Verdugo *et al.*, 1990). El clima de la región se clasifica como tropical sub-húmedo y tiene una precipitación anual de entre 1,000 y 1,500 mm.

Recolecta, procesamiento y análisis de las muestras

Se recolectó material foliar de 176 individuos de las especies de mangle *A. germinans* y *R. mangle*, ubicados en los tres cuerpos acuáticos costeros anteriormente descritos. La distancia entre individuos fue mayor a 50 m entre sí,

para reducir la probabilidad de muestrear individuos con estrecho parentesco (originados a partir de propágulos de un mismo árbol).

El material foliar de cada individuo fue depositado en bolsas de papel absorbente previamente etiquetadas y fue transportado al Laboratorio de Ecología Molecular de la Facultad de Ciencias Marinas, en la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), donde se congelaron a -70°C hasta el momento en que se procesaron para la extracción del DNA total.

Extracción de DNA

El DNA total fue obtenido a partir de 20 mg de tejido foliar utilizando el sistema de extracción Dneasy Plant MiniKit (QIAGEN). El proceso de extracción inició cortando finamente el tejido de cada muestra, utilizando para esto una navaja y una lamina de portaobjetos previamente esterilizados. Posteriormente la muestra fue depositada en tubos estériles de 1.5 mL, congelada en nitrógeno líquido para facilitar la ruptura de su pared celular y triturada con un pistilo plástico hasta obtener una masa homogénea. El resto del proceso, que comprendió el aislamiento y la purificación del DNA, se llevó a cabo siguiendo las especificaciones del fabricante del sistema de extracción mencionado.

El paso final consiste en resuspender el DNA en 30 μL de solución amortiguadora de almacenamiento TE (Tris-HCl 5.0 mM pH 7.9 y EDTA 0.1 mM pH 8.0) y almacenado a -20°C para su preservación. La eficiencia de la extracción fue evaluada mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2% con 0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de bromuro de etidio para visualizar el DNA con ayuda de una lámpara de luz ultravioleta y registrándolo por medio de una fotografía digital.

La calidad del DNA se evaluó al considerar a una banda bien definida como DNA de buena calidad y a las bandas barridas como DNA degradado. La cantidad de DNA se evaluó inicialmente al comparar con la intensidad de las

bandas de un marcador de concentración conocida y posteriormente a través de un espectrofotómetro Thermo Scientific NanoDrop™ ND-1000.

Amplificación de los *loci* de microsatélites

Se amplificaron siete *loci* de microsatélites específicos de *A. germinans*, seis de éstos, caracterizados por Nettel *et al.* (2005) y uno más, el *locus* CA_002, caracterizado por Ceron-Sousa *et al.* (2006), cuyos cebadores fueron etiquetados con distintos fluorocromos (Tabla I). Posteriormente, éstos fueron amplificados mediante una reacción en cadena de la DNA polimerasa (PCR) usando un amortiguador 110 mM de Tris-HCl pH 8.4, 55 mM de KCl, 27.5 µg mL⁻¹ de BSA, 110 µM de dNTP's, 0.2 picomoles de cada cebador, 2.75 µM de MgCl₂, 1.0 U de Taq DNA polimerasa recombinante (INVITROGEN) y 5 ng de DNA genómico en un volumen final de reacción de 25 µL.

Tabla I. *Loci* de microsatélites de *A. germinans* utilizados para el análisis genético poblacional en el litoral de Sinaloa. Al final de la secuencia de cada cebador F se indica el fluorocromo con el que fueron etiquetados, T °C: indica la temperatura de alineación utilizada en la PCR para cada cebador.

Locus	Secuencia 5'-3'	Tipo de repetición	T °C
	F: forward / R: reverse		
AgT4	F: CAAGATTTTGATCAATTATG ^{PET}	(CATA) ₅ CATG(CATA) ₈	52
	R: ACGTGACGCATTGATCTACC		
AgT7	F: CTAAGTAGGACAGTAATGCGAC ^{NED}	(CAT) ₂ (AT) ₃ (GTAT) ₅	50
	R: AATCATCAGAATCCCTCAAGTGC		
AgT8	F: ACACAACGCAGATAAATCC ^{VIC}	(TGTA) ₆	50
	R: AATGATGCGCTGTCTCCGTC		
AgT9	F: GAACCTGATTAAATGGTTGC ^{NED}	(CA) ₈ (GA) ₂ (CAGA) ₅	50
	R: TCAAATTGCTTGTAGAGG		
AgD6	F: TATATGGAAACCAACCATGC ^{FAM}	(ATT) ₄ N ₇ (GT) ₁₅	50
	R: GATGGTGCGGGCTGTC		
AgD13	F: TTCACCTATATGAATGGCGCAC ^{VIC}	(CA) ₁₀	52
	R: GGAGCACGCGATAACAAGAGC		
CA_002	F: AGCCCTGGTGATAGTGACAG ^{VIC}	(CA) ₁₂	55
	R: AACAGCAAAATGTAAAGTGGCATC		

Para el caso de *R. mangle*, se utilizaron siete *loci* de microsatélites reportados previamente por Rosero-Galindo *et al.* (2002). Los cebadores de estos *loci* fueron también marcados con fluorocromos para proceder a la amplificación por PCR (Tabla II). Las reacciones de amplificación se prepararon bajo condiciones muy similares a las mencionadas para *R. mangle*, a excepción de la concentración de los dNTP's 220 µM, y del MgCl₂ 1.55 µM.

Tabla II. *Loci* de microsatélites utilizados para el análisis genético poblacional de *R. mangle* en el litoral de Sinaloa. Al final de la secuencia de cada cebador F se indica el fluorocromo con el que fueron etiquetados, T °C: indica la temperatura de alineación utilizada en el perfil de la PCR para cada par de cebadores.

Locus	Secuencia 5'-3'	Tipo de repetición	T °C
	F: forward / R: reverse		
Rm7	F: TGTGTGCTACAGACTTCATGC ^{NED} R: AGAGATACCAATCCAAGAACTGC	(TA) ₁₄ (TGTA) ₂ (CA) ₁₁ (TA) ₃ (GA) ₄ (GA) ₂	50
Rm11	F: GGTGGGATTTGGTCTGGC ^{FAM} R: TTGCTTCCACACAGGAAAGAAG	(CT) ₁₆ (CA) ₃	50
Rm19	F: TGCCCTCTACGTTGTGAATG ^{NED} R: CTGTCTGAGCTTGCATCATTG	(AG) ₂₆	50
Rm21	F: TTGCACTACCACAAACCAACC ^{PET} R: TTGCACAAGCACAAGAGCATAC	(CT) ₁₂	50
Rm38	F: CTCATGCACACGGATACAGACAC ^{VIC} R: TGTTCTTATTCCTCAAATGATGCC	(CA) ₈	50
Rm41	F: TGGAAGGATTGTGGTAATTGGG ^{NED} R: CATGTGGGTGTGCTCTGGG	(GA) ₂₅	48
Rm46	F: ACAGTCCTCCAATCGTGAAT ^{PET} R: TTAAATTCTGACGGGACCAG	(AT) ₄ (GCGT) ₈ (GT) ₈ (GGAA) ₂	50

Las reacciones de la PCR se llevaron a cabo en un termociclador Eppendorf Mastercycler. Para el caso de los *loci* de *A. germinans*, se utilizaron dos diferentes perfiles de amplificación. El primero, empleado para los *loci* AgT4, AgT7, AgT8, AgT9, AgD6 y AgD13, consistió de un periodo de desnaturalización inicial de 7min a 95°C seguido de 30 ciclos de 1min a 94°C, 1min a la temperatura óptima de alineación de cada microsatélite (Tabla I) y

1min a 72°C. Los 30 ciclos finalizaron con una extensión final de 10min a 72°C. El segundo perfil, empleado para amplificar al *locus* CA_002, consistió de un periodo de desnaturalización inicial de 3min a 94°C seguido de 35 ciclos de desnaturalización por 40 s a 94°C, alineación por 40 s a 55°C y extensión a 72°C por 30 s, para culminar con un ciclo de extensión durante 4 min a 72°C.

El perfil de amplificación para los *loci* de *R. mangle* consistió de un periodo de desnaturalización inicial de 2 min a 96°C seguido de 35 ciclos de 15s a 94°C, 15s a la temperatura óptima de alineación de cada microsatélite (Tabla II) y 15s a 72°C. Los 35 ciclos concluyeron en una extensión final de 5min a 72°C.

La concentración de los productos de la PCR, fue evaluada al compararla con un marcador de concentración conocida mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2% con 0.5 µg/µL de bromuro de etidio y visualizada bajo una lámpara de luz ultravioleta. Después de lo anterior, se homogenizó la concentración de las muestras mediante diluciones con agua destilada desionizada, hasta llevarlas a una concentración aproximada a 2 ng/µL, que es la concentración promedio que se requiere para el análisis de fragmentos en el secuenciador automático.

Análisis de Fragmentos

Después del proceso de amplificación de las muestras, a través de la PCR, estas fueron genotipadas en un secuenciador automático de DNA ABI PRISM® 3130xl Genetic Analyzer. Las muestras fueron enviadas a SeqXcel Inc., en la ciudad de San Diego, California, EE.UU., donde se llevo a cabo el genotipado.

El genotipado, consiste en una electroforesis capilar, durante la cual, los productos de la PCR son mezclados con un marcador estándar de peso molecular (GS-600LIZ) y son separados de acuerdo a su tamaño. Un láser integrado al secuenciador, que funciona a modo de escáner, detecta los

fragmentos etiquetados con cada fluorocromo a una longitud de onda específica.

El software del secuenciador convierte los patrones de bandeo en un gráfico bidimensional o cromatograma en el que cada pico corresponde a la señal de cada fragmento marcado. La posición del pico a lo largo del eje de las abscisas corresponde al tamaño del *locus* medido en pares de bases. El eje de las ordenadas hace referencia a la intensidad y corresponde a la cantidad de DNA marcado, es decir, a la concentración del fragmento marcado.

Los archivos electrónicos correspondientes a cada cromatograma, fueron leídos mediante el Peak ScannerTM Software 1.0 (Applied Biosystems[®]) y el GeneMarker Software 1.71 (Softgenetics[®]). La forma en que se interpretan los resultados, fundamentalmente se sustenta en que, una sola señal (un solo pico del cromatograma) indica el genotipo de un individuo homocigoto ya que ambos alelos son del mismo tamaño y la señal de ambos alelos se traslapa, en cambio, dos señales indica el genotipo de un individuo heterocigoto, donde cada señal representa a cada uno de sus alelos (Selkoe y Toonen, 2006).

Análisis de datos

Con base en la información obtenida del cromatograma, se identificó el tamaño de los alelos en cada *locus* y para cada individuo. El juego completo de alelos de cada individuo, se integra para generar un archivo que corresponde al genotipo compuesto (*multilocus*). Para hacer el análisis descriptivo de los datos, en el que se incluyen las frecuencias alélicas, así como la diversidad genética (heterocigosidad observada y esperada) para cada *locus*, se utilizó el Genetic Data Analysis Software (GDA; Lewis y Zaykin, 2001). Por otra parte, con ayuda del GENEPOP Software (Raymond y Rousset, 1995) se estimaron las desviaciones al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) para cada *locus* en cada población.

Con el objeto de establecer la posible presencia de estructura genética, entre los tres bosques de las especies de mangle analizadas, se efectuó un análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico, mediante el programa Arlequín 3.1 (Excoffier, 2006). La significancia estadística del AMOVA fue evaluada a través de 10,000 permutaciones no paramétricas con base en los estadísticos F de Wright, (F_{ST} , F_{IS} y F_{IT} ; Wright, 1965).

Para el AMOVA se emplearon dos aproximaciones teóricas del modelo de mutación de los *loci* de microsatélites. La primera aproximación se basa en el modelo de alelos infinitos (IAM) y esta representado por el índice F_{ST} , el cuál sólo considera la frecuencia de los alelos detectados considerando que cada mutación da origen a un nuevo alelo. En la segunda aproximación, basada en el modelo de mutación por pasos (SMM) y representada a través del índice R_{ST} , se considera no sólo la frecuencia de los alelos, sino la distancia genética molecular encontrada entre estos (Balloux y Lugon-Moulin 2002).

Finalmente, se aplicó la prueba exacta de diferenciación entre poblaciones, la cual es una prueba análoga a la prueba de Fisher, pero extendida a una tabla de contingencia de dos por el número de genotipos (Raymond y Rousset, 1995). La prueba exacta, a diferencia del AMOVA, permite estimar la diferenciación genética entre pares de poblaciones.

El nivel de significancia de todos los análisis estadísticos se fijó al 95% ($\alpha=0.05$).

RESULTADOS

Diversidad genética en *Avicennia germinans*

A través del análisis de siete *loci* de microsatélites, se detectaron un total de 27 alelos y 46 genotipos diferentes en los 90 individuos del mangle *A. germinans* analizados en los tres cuerpos acuáticos costeros del litoral del Estado de Sinaloa. La localidad de El Jitzámuri, ubicada en la porción norte del litoral, presentó la menor diversidad genética (número de alelos, genotipos e individuos heterocigóticos) y la de Teacapán, ubicada en la porción sur, fue la localidad que presentó la mayor diversidad genética (Tabla III).

Tabla III. Estadísticos descriptivos para cada una de las tres localidades analizadas para determinar la diversidad genética del mangle *A. germinans* en el litoral de Sinaloa. n, número de individuos analizados; A, número de alelos; G, número de genotipos; HE, proporción esperada de heterocigotos; HO, proporción observada de heterocigotos; FIS, coeficiente de endogamia; H-W (*p*), valor de significancia de la prueba global de equilibrio de Hardy-Weinberg.

Población	n	A	G	HE	HO	FIS	H-W (<i>p</i>)
El Jitzámuri	30	15	10	0.05	0.05	- 0.01	1.00
Altata	30	19	23	0.21	0.21	0.02	0.69
Teacapán	30	22	25	0.24	0.24	- 0.00	0.65
Global	90	27	46	0.17	0.17	0.00	0.79

De acuerdo a lo descrito en el párrafo anterior y aún cuando las frecuencias observadas de alelos y de genotipos, no resultaron diferentes a los esperados bajo la hipótesis de panmixia (reproducción al azar), es posible apreciar un

patrón latitudinal de disminución en la diversidad genética de *A. germinans* hacia la porción norte del litoral del Estado de Sinaloa (Tabla III, Fig. 4).

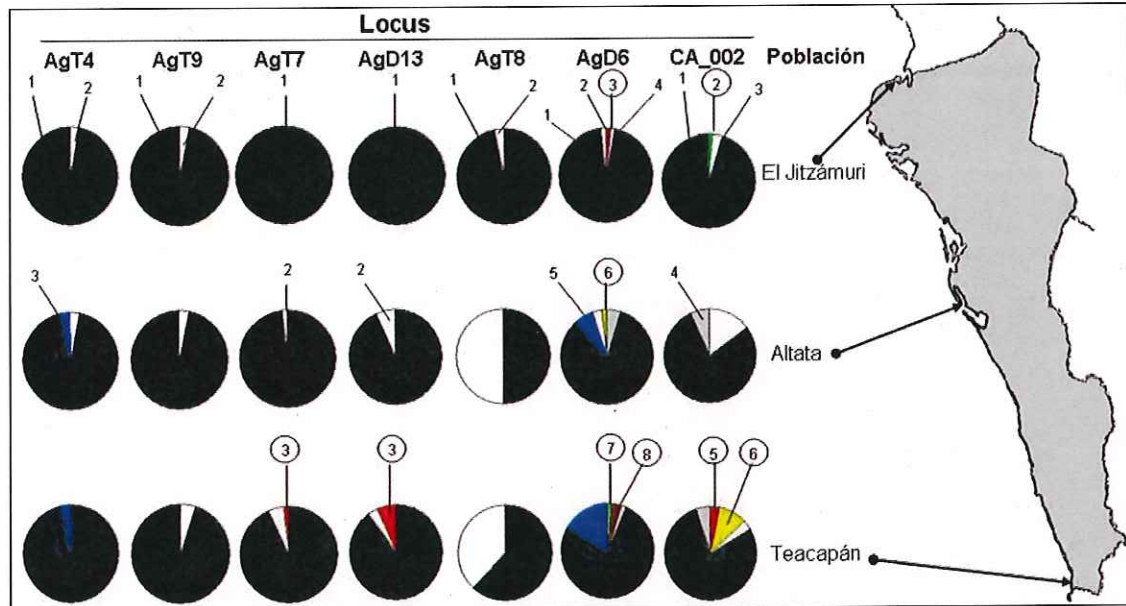


Figura 4. Frecuencias alélicas a partir del análisis de los siete *loci* de microsatélites: AgT4, AgT9, AgT7, AgD13, AgT8, AgD6 y CA_002 analizados en tres bosques del mangle *A. germinans*, en el litoral de Sinaloa, México. Los números 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8, corresponden al número de alelos en cada *locus*. Los números encerrados en círculos indican los alelos privados detectados por *locus* en cada una de las localidades analizadas.

El análisis descriptivo de cada uno de los *loci*, muestra que la mayor diversidad genética, así como la mayor distancia genética, medida con base en las diferencias en el número de unidades de repetición, fue observada a través de los *loci* de microsatélites AgD6 y CA_002 que son los que presentan en su motivo de repetición, un mayor número de repeticiones dinucleótidas (Tabla IV). Es importante resaltar que siete de los nueve alelos exclusivos (privados)

observados fueron detectados por los *loci* AgD6 y CA_002. La mayoría de estos alelos privados ocurrieron en la localidad de Teacapán (Fig. 4).

Tabla IV. Estadísticos descriptivos de los siete *loci* de microsatélite analizados para estimar la diversidad genética del mangle *A. germinans* en el litoral de Sinaloa. Repetición, motivo de repetición; A, número de alelos; G, número de genotipos; Tamaño, Intervalo de longitud (pb) de los alelos; HE, proporción esperada de heterocigotos; HO, proporción observada de heterocigotos; FIS, coeficiente de entrecruzamiento; H-W (*p*), valor de significancia de la prueba global de equilibrio de Hardy-Weinberg.

<i>Locus</i>	Repetición	A	G	Tamaño	HE	HO	FIS	H-W (<i>p</i>)
AgT4	(CATA) ₅ CATG(CATA) ₉	3	4	103-115	0.08	0.07	0.10	0.12
AgT9	(CA) ₈ (GA) ₂ (CAGA) ₅	2	2	229-238	0.07	0.07	-0.03	1
AgT7	(CAT) ₂ (AT) ₃ (GTAT) ₅	3	3	169-185	0.05	0.05	-0.01	1
AgD13	(CA) ₁₀	3	3	297-303	0.10	0.11	-0.03	1
AgT8	(TGTA) ₆	2	3	110-114	0.42	0.34	0.19	0.51
AgD6	(ATT) ₄ N ₇ (GT) ₁₅	8	10	239-263	0.27	0.25	0.05	0.38
CA_002	(CA) ₁₂	6	8	291-308	0.28	0.28	0.00	0.77

p<0.05, estadísticamente significativo

Aún cuando algunos de los *loci* analizados resultaron con valores de entrecruzamiento positivos (Tabla IV), es importante mencionar que de acuerdo a la prueba global de equilibrio de Hardy-Weinberg basada en las heterocigocidades observadas y esperadas, no se encontró evidencia significativa de que al menos uno de los siete *loci* analizados presente desviaciones al equilibrio de H-W (Tabla IV).

Análisis de la estructura genética para *Avicennia germinans*

El análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico, aplicado con las aproximaciones al modelo de alelos infinitos (IAM) y al modelo de mutación por pasos (SMM), mostró una diferenciación genética significativa (presencia de estructura genética) entre las localidades analizadas (Tabla V). En consecuencia, puede afirmarse que los bosques del mangle *A. germinans* de los tres cuerpos acuáticos costeros del Estado de Sinaloa analizados, conforman al menos dos poblaciones discretas.

Tabla V. Análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico, aplicado bajo dos aproximaciones al modelo de mutación de los microsatélites (IAM y SMM) en los tres bosques del mangle *A. germinans* analizados en el litoral de Sinaloa, México; % Var., Porcentaje de variación explicado por el nivel jerárquico; *, Estadísticamente significativo ($P < 0.05$).

Fuente de Variación	Grados de	IAM		SMM	
	Libertad	% Var.	F _{ST}	% Var.	R _{ST}
Entre Poblaciones	2	12.23*	0.12*	5.14*	0.05*
Entre individuos dentro de las poblaciones	87	-4.36	-0.04	-4.38	-0.04
Dentro de los individuos	90	92.13	0.07	99.23	0.00

La prueba exacta de diferenciación genética entre localidades permitió identificar que la localidad de El Jitzámuri, ubicada en la porción norte del litoral del Estado de Sinaloa, presenta diferencias significativas con las de Altata y de Teacapán, ubicadas en el centro y sur del litoral, respectivamente y que estas últimas dos localidades no muestran diferencias significativas entre sí (Tabla VI).

De acuerdo a lo anterior y con base en el análisis de las tres localidades de estudio, es posible indicar que en el litoral del Estado de Sinaloa existen dos poblaciones del mangle *A. germinans*, la primera agrupa a los bosques localizados en los sistemas lagunares de la porción norte y la segunda a los que se distribuyen hacia la zona centro-sur del litoral del Estado de Sinaloa.

Tabla VI. Matriz de comparaciones pareadas de la prueba exacta de diferenciación genética aplicada a tres bosques del mangle *A. germinans* en el litoral de Sinaloa, calculada usando el modelo de alelos infinitos (F_{ST}) en la diagonal inferior y el modelo de mutación por pasos (R_{ST}) en la diagonal superior; * Diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

	El Jitzámuri	Altata	Teacapán
El Jitzámuri	0	0.115*	0.054*
Altata	0.201*	0	0.013
Teacapán	0.175*	0.05	0

Es importante mencionar también que, al hacer la prueba exacta de comparaciones entre pares de poblaciones, los valores de diferenciación genética correspondientes al índice F_{ST} fueron mayores que los de su índice análogo R_{ST} . Lo anterior indica que para los bosques del mangle *A. germinans* analizados en el litoral del Estado de Sinaloa, la información que aportan las frecuencias alélicas tiene un mayor impacto en el coeficiente de diferenciación genética, que la información asociada a la distancia genética de los alelos (Tabla VI).

Diversidad genética en *Rhizophora mangle*

El análisis de siete *loci* de microsatélites, permitió detectar un total de 24 alelos y 80 genotipos diferentes en 86 individuos del mangle *R. mangle*, analizados en tres cuerpos acuáticos costeros, ubicados en las porciones norte, centro y sur del litoral del Estado de Sinaloa.

La localidad de El Jitzámuri, ubicada en la porción norte del litoral, mostró la menor diversidad genética, mientras que la localidad de Altata, ubicada en la porción centro del litoral presentó el mayor número de alelos y el mayor valor de heterocigocidad, aún a pesar de esto, el numero de genotipos muestra un patrón latitudinal de disminución hacia la porción norte del litoral del Estado de Sinaloa (Tabla VII).

Tabla VII. Estadísticos descriptivos para cada una de las tres localidades analizadas para determinar la diversidad genética del mangle *R. mangle* en el litoral de Sinaloa. n, número de individuos analizados; A, número de alelos; G, número de genotipos; HE, proporción esperada de heterocigotos; HO, proporción observada de Heterocigotos; F_{IS} , coeficiente de entrecruzamiento (endogamia); H-W (p), valor de significancia de la prueba global de equilibrio de Hardy-Weinberg; *, Estadísticamente significativos ($p < 0.05$).

Población	n	A	G	HE	HO	F_{IS}	H-W (P)
El Jitzámuri	28	15	23	0.27	0.24	0.11	0.19
Altata	29	22	28	0.29	0.30	-0.02	0.67
Teacapán	29	18	29	0.32	0.24	0.24*	0.00*
Global	86	24	80	0.29	0.26	0.11	0.29

La localidad de Teacapán muestra indicios de endogamia al presentar una menor proporción de genotipos heterocigotos a los esperados bajo la hipótesis

de panmixia (Tabla VII). Aún a pesar de esto, sus valores de diversidad genética son mayores a los detectados en la localidad de El Jitzámuri, pudiéndose apreciar, al igual que para *A. germinans*, un patrón latitudinal de dilución de su diversidad genética hacia la porción norte del litoral del Estado de Sinaloa (Tabla VII, Fig. 5).

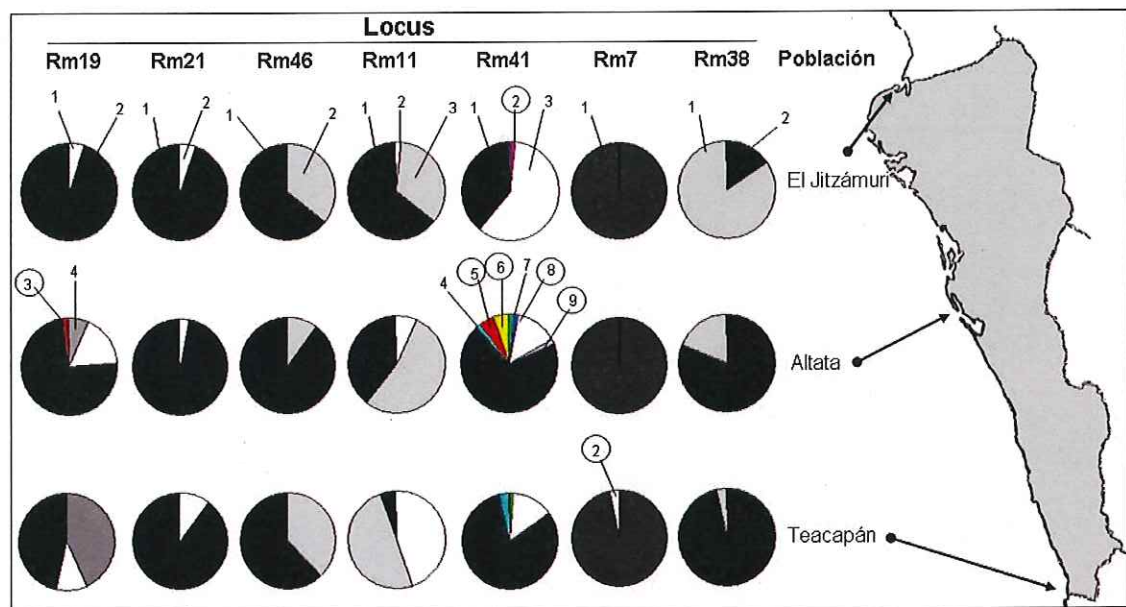


Figura 5. Frecuencias alélicas a partir del análisis de los siete *loci* de microsatélites: Rm19, Rm21, Rm46, Rm11, Rm41, Rm7 y Rm38 analizados en tres bosques del mangle *R. mangle*, en el litoral de Sinaloa, México. Los números 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9, corresponden al número de alelos en cada *locus*. Los números encerrados en círculos muestran los alelos privados detectados por *locus* en cada una de las localidades analizadas.

El análisis descriptivo de diversidad genética, en cada uno de los *loci* analizados, indicó que la mayor diversidad genética, fue evidenciada a través de los *loci* Rm19 y Rm41, curiosamente estos *loci* de microsatélites presentan

en su motivo de repetición al mayor número de repeticiones dinucleótidas de los siete *loci* incluidos en el análisis (Tabla VIII).

Los tres bosques de mangle analizados presentaron alelos privados, pero resalta el hecho que hayan sido detectados seis de los siete alelos privados a través de los dos *loci* antes mencionados, además de que sólo el *locus* Rm41, permitió la detección de cuatro de los alelos privados, concentrados en la localidad de Altata, ubicada al centro del litoral del Estado de Sinaloa (Fig. 5).

Tabla VIII. Estadísticos descriptivos de los siete *loci* de microsatélite analizados para estimar la diversidad genética del mangle *R. mangle* en el litoral de Sinaloa. Repetición, motivo de repetición; A, número de alelos; G, número de genotipos; Tamaño, Intervalo de longitud (pb) de los alelos; HE, proporción esperada de heterocigotos; HO, proporción observada de heterocigotos; FIS, coeficiente de entrecruzamiento; H-W (p), valor de significancia de la prueba global de equilibrio de Hardy-Weinberg; *, Estadísticamente significativos ($p < 0.05$).

<i>Locus</i>	Repetición	A	G	Tamaño	HE	HO	FIS	H-W (p)
Rm19	(AG) ₂₆	4	7	149-155	0.45	0.29	0.35	0.04*
Rm21	(CT) ₁₂	2	3	188-198	0.12	0.10	0.13	0.30
Rm46	(AT) ₄ (GCGT) ₈ (GT) ₈ (GGAA) ₂	2	3	198-202	0.40	0.30	0.25	0.10
Rm11	(CT) ₁₆ (CA) ₃	3	6	167-177	0.62	0.51	0.18	0.40
Rm41	(GA) ₂₅	9	11	177-197	0.51	0.36	0.30	0.00*
Rm7	(TA) ₁₄ (TGTA) ₂ (CA) ₁₁ (TA) ₃ (GA) ₄ (GA) ₂	2	2	190-192	0.02	0.02	0.00	1.00
Rm38	(CA) ₈	2	3	204-218	0.45	0.25	0.44	1.00

Sumado a lo descrito en el párrafo anterior, es importante mencionar que ambos *loci*, Rm19 y el Rm41 mostraron desviaciones significativas al equilibrio

de Hardy-Weinberg (Tabla VIII), lo cual indica que el número de genotipos heterocigotos observados con estos *loci* resultó ser menor al esperado bajo la hipótesis de panmixia.

Análisis de la estructura genética para *Rhizophora mangle*

El análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico, aplicado con las aproximaciones al modelo de alelos infinitos (IAM) y al modelo de mutación por pasos (SMM), mostró diferencias significativas entre las localidades analizadas (Tabla IX). Esto significa que, al menos uno de los tres bosques de *R. mangle* presenta diferencias significativas, lo cual indica la presencia de al menos dos poblaciones distintas a lo largo de su litoral.

Tabla IX. Análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico, aplicado bajo dos aproximaciones al modelo de mutación de los microsatélites (IAM y SMM) en los tres bosques del mangle *R. mangle* analizados en el litoral de Sinaloa, México; % Var., Porcentaje de variación explicado por el nivel jerárquico; *, Estadísticamente significativo ($P < 0.05$).

Fuente de Variación	Grados de	IAM		SMM	
	Libertad	% Var.	F _{ST}	% Var.	R _{ST}
Entre Poblaciones	2	6.55*	0.06*	47.36*	0.47*
Entre individuos dentro de las poblaciones	83	3.17	0.03	-0.15	0.00
Dentro de los individuos	86	90.28	0.09	52.79	0.47

La prueba exacta de diferenciación genética mostró diferencias significativas entre todas las localidades, lo cual indica que cada una de las localidades

analizadas pertenece a una población genéticamente diferente. De acuerdo a lo anterior, y aún cuando los bosques de *R. mangle* analizados, comparten entre sí una gran parte de sus alelos, no se observó lo mismo en sus genotipos *multilocus*, evidenciando así la diferenciación genética entre las poblaciones analizadas (Tabla X).

Tabla X. Matriz de comparaciones pareadas de la prueba exacta de diferenciación genética aplicada a tres bosques del mangle *R. mangle* en el litoral de Sinaloa, calculada usando el modelo de alelos infinitos (F_{ST}) en la diagonal inferior y el modelo de mutación por pasos (R_{ST}) en la diagonal superior; * Diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

	El Jitzámuri	Altata	Teacapán
El Jitzámuri	0	0.433*	0.646*
Altata	0.083*	0	0.170*
Teacapán	0.095*	0.019*	0

Es importante mencionar que en la prueba exacta de comparaciones pareadas, además de mostrar diferencias significativas, éstas se magnificaron al considerar en el análisis, a las distancias genéticas (R_{ST}) de los loci de microsatélites (Tabla X). Lo anterior sugiere que la información aportada por las distancias genéticas de los alelos detectados en cada una de las localidades analizadas ejerce una importante influencia sobre la diferenciación genética de las poblaciones de *R. mangle* a lo largo del litoral del estado de Sinaloa.

Distribución de la variabilidad genética de *Avicennia germinans* y *Rhizophora mangle* a lo largo del litoral de Sinaloa

Los índices de diversidad genética (numero de alelos, número de genotipos y heterocigocidad) muestran que la diversidad genética de las poblaciones de A.

germinans disminuyen gradualmente hacia el norte del litoral del Estado. Por otra parte, en *R. mangle* el número de alelos y la heterocigocidad fue mayor en el centro del litoral, pero el número de genotipos presenta el mismo patrón observado en *A. germinans*.

Por otro lado, aunque *R. mangle* presentó un mayor número de genotipos multilocus, no se evidenció intercambio de éstos entre las localidades. En contraste, *A. germinans* presentó algunos genotipos compartidos, la mayoría de éstos, entre las poblaciones de Altata y Teacapán (Fig. 6).

La localidad de El Jitzámuri, mostró la menor diversidad genética y *A. germinans* el mayor número de individuos homocigotos, lo cual se ve reflejado en su reducida heterocigocidad. Para el caso de *R. mangle*, las localidades de los extremos del litoral de Sinaloa, mostraron valores más bajos de heterocigocidad. Sin embargo, es importante mencionar que para esta última especie, la única localidad con un déficit de heterocigotos significativo (endogamia) fue la de Teacapán (Tabla VII).

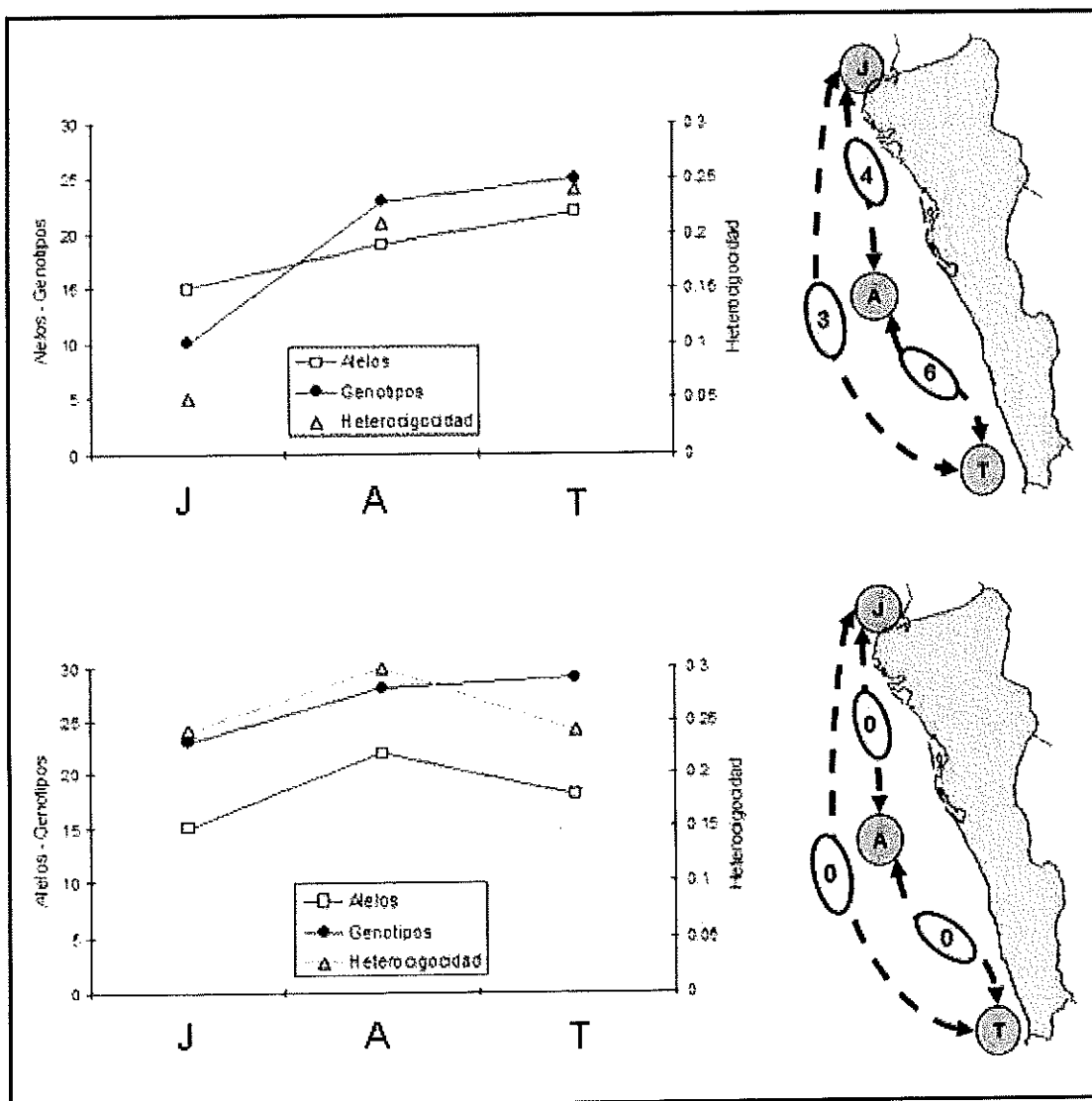


Figura 6. Distribución de la diversidad genética en el litoral de Sinaloa. Arriba, *A. germinans*, abajo, *R. mangle*. J: Localidad El Jitzámuri, A: Localidad de Altata, T: Localidad de Teacapán. Las flechas indican el intercambio de genotipos entre las localidades analizadas y el número dentro del ovalo, indica el número de genotipos que comparten.

DISCUSIÓN

Diversidad Genética

El presente trabajo representa el primer estudio en México que usa *loci* de microsatélites para caracterizar la identidad genética de los bosques de mangle. En el que se observó que el número promedio de alelos por *locus* por población en *A. germinans* varió de 2.14 en la localidad de El Jitzámuri a 3.14 en la localidad de Teacapán, mostrando valores muy similares a los reportados para *A. marina*, otra especie representante del género (Giang *et al.*, 2003), estos autores reportaron la presencia de 1.66 a 3.0 alelos en promedio por *locus* por población.

Por otro lado, en *R. mangle* el número promedio de alelos por *locus* por población varió de 2.14 en la localidad de El Jitzámuri a 3.14 en la localidad de Altata, mostrando una mayor diversidad alélica a la observada mediante el análisis de alozimas (Nuñez-Farfán *et al.*, 2002), en el que se detectó a un número promedio de 1.1 a 2.0 alelos por *locus* por población.

El nivel de polimorfismo detectado en las dos especies de mangle analizadas en el litoral del Estado de Sinaloa, es menor al detectado con *loci* de microsatélites por Maguire *et al.* (2000b) y por Arnaud-Haond *et al.* (2006), donde, los primeros detectaron 70 alelos mediante el análisis de tan solo tres *loci* de microsatélites y los segundos detectaron 118 alelos en siete *loci* de microsatélites en poblaciones de *A. marina*.

Es importante resaltar que el estudio de Maguire *et al.* (2000b) incluyó poblaciones de *A. marina*, distribuidas a lo largo de su distribución geográfica (África, Asia, Japón y Australia). De la misma forma, en el estudio de Arnaud-Haond *et al.* (2006) el muestreo abarcó localidades distribuidas en tres regiones que representan el límite norte (norte de Vietnam y de Filipinas), el límite sur

(sur de Australia) y la porción central (norte y este de Australia) de la distribución de *A. marina*. El reducido número de alelos detectados en el presente estudio para *A. germinans* y *R. mangle* puede explicarse entonces en función de la escala geográfica del muestreo.

Maguire *et al.* (2000b) y Arnaud-Haond *et al.* (2006) mencionan que la diversidad genética de *A. marina*, tiende a disminuir a medida que se acerca a su límite de distribución. La diversidad genética encontrada en el litoral de Sinaloa, es comparable con la de las poblaciones de *A. marina*, cercanas a su límite de distribución (Maguire *et al.*, 2000b; Arnaud-Haond *et al.*, 2006) (Tabla XI). Así, la baja diversidad genética puede atribuirse a la ubicación geográfica del Estado de Sinaloa, el cual se encuentra muy cerca del límite norte de distribución de las especies de mangle en el Pacífico americano.

Tabla XI. Comparación de la diversidad genética detectada en poblaciones núcleo de mangle con aquellas cercanas al límite de su distribución geográfica. A, número de alelos en la población; HE, proporción esperada de heterocigotos; HO, proporción observada de heterocigotos.

Poblaciones	A	HE	HO	Especie	Fuente
Límite de distribución	3 - 8	0 - 0.26	0 - 0.30	<i>A. marina</i>	Maguire <i>et al.</i> , 2000b.
Límite de distribución	12 - 25	0.15 - 0.37	0.02 - 0.30	<i>A. marina</i>	Arnaud-Haond <i>et al.</i> , 2006.
Núcleo	22 - 37	0.70 - 0.85	0.65 - 0.80	<i>A. marina</i>	Maguire <i>et al.</i> , 2000b.
Núcleo	57 - 67	0.54 - 0.79	0.52 - 0.75	<i>A. marina</i>	Arnaud-Haond <i>et al.</i> , 2006.
Sinaloa	15 - 22	0.27 - 0.32	0.24 - 0.30	<i>R. mangle</i>	Este estudio
Sinaloa	15 - 22	0.05 - 0.24	0.05 - 0.24	<i>A. germinans</i>	Este estudio

La baja diversidad genética de las poblaciones cercanas a su límite de distribución, puede atribuirse también, al reducido tamaño efectivo de sus poblaciones (mayor efecto de la deriva génica), comparado con los extensos y continuos bosques observados en las poblaciones cercanas a las regiones tropicales, donde las especies de mangle tienen su máximo desarrollo (Maguire *et al.*, 2000b, Arnaud-Haond *et al.*, 2006).

En el litoral del Estado de Sinaloa, el que se haya encontrado la menor diversidad en la población de El Jitzámuri, puede estar relacionada al tamaño efectivo de la población, ya que es esta población, la que presenta la menor cobertura de manglar, además de no presentar una distribución continua sino mas bien en pequeñas agregaciones formando pequeños parches de vegetación sobre el contorno del cuerpo acuático (De la Fuente y Carrera, 2005).

Por otro lado, el que la población de Teacapán se ubique muy cerca de Marismas Nacionales, el cual es uno de los ecosistemas de manglar más extensos del Pacífico mexicano (Flores-Verdugo *et al.*, 1990) y por tanto, teóricamente debería mostrar mayor diversidad genética a las otras dos localidades con menor cobertura de manglar, al tener una mayor probabilidad de recibir nuevos genotipos y aumentar así su acervo genético.

Considerando la gran densidad y extensión del ecosistema de manglar de Marismas Nacionales (Flores-Verdugo *et al.*, 1990), es probable que contenga una mayor diversidad genética. Lo anterior, aunado al patrón de corrientes observado frente a las costas de Sinaloa, en el que durante la mayor parte del año, el flujo dominante va en dirección sur-norte (Blanco-Betancourt, 1996), sugiere que la disminución de la diversidad genética de las especies de mangle analizadas hacia el norte del litoral del Estado de Sinaloa, esta relacionado a la integración de ambos factores.

Por otro lado, es posible que la selección natural pueda contribuir también a la reducción de la diversidad genética en poblaciones cercanas a su límite de distribución: Al estar fuera de su hábitat óptimo y sujetas a condiciones ambientales extremas, es posible que sólo ciertos genotipos sobrevivan (Arnaud-Haond, 2006).

En el presente estudio, el haber encontrado la mayor diversidad genética en las poblaciones de Teacapán y Altata puede estar relacionado con el aporte de agua dulce por la descarga de ríos a estos sistemas, lo cual reduce su salinidad, favoreciendo con esto el desarrollo de las especies de mangle las cuales tienen su máximo desarrollo en ambientes estuarinos. Contrario a lo que sucede en la localidad de El Jitzámuri, donde la entrada de agua dulce se limita a la escasa precipitación registrada en la región (Romero-Sedano *et al.*, 2004). En este sentido, en la localidad de El Jitzámuri, la salinidad es un factor que puede influir en la exclusión de aquellos genotipos no aptos a la salinidad del sistema.

Estudios previos señalan que, generalmente, el número de alelos tiende a incrementar cuando incrementa el número de repeticiones, en los *loci* de microsatélites analizados (Weber, 1990; Maguire *et al.*, 2000a). En el presente estudio, los *loci* que presentaron mayor número de alelos corresponden a aquellos que presentaron en su motivo de repetición, al mayor número de repeticiones dinucleótidas, tal es el caso del *locus* Rm41 para *R. mangle* y del *locus* AgD6 para *A. germinans*.

Lo anterior, está relacionado con la forma de mutación de los microsatélites, debido a que, cuando el número de repeticiones es mayor, las probabilidades de que la DNA polimerasa cometa un error, durante el proceso de replicación y adicione o reste una repetición a la secuencia del microsatélite, se incrementan conforme aumenta el número de repeticiones (Selkoe y Toonen, 2006).

Durante el desarrollo del presente trabajo, el análisis del *locus* Rm41, fue uno de los más problemáticos desde su amplificación a través de la PCR hasta la lectura de sus cromatogramas, donde aparecieron muchas señales fantasma (stutters bands) que dificultaron la asignación de sus alelos. De acuerdo a lo anterior y aún cuando se repitió la amplificación y el genotipado de los individuos con señales fantasma en el gráfico, no se descarta la posibilidad de que algunos de los alelos asignados, sean producto de artefactos durante la PCR, o bien durante el genotipado de los individuos, lo cual explica en cierta medida el alto número de alelos detectado por este *locus*, particularmente en la población de Altata.

Por otro lado, el haber encontrado el mayor número de alelos de *R. mangle* en la población de Altata, puede deberse al ingreso de genotipos provenientes de otras poblaciones, esto porque en esta especie se observaron alelos con grandes distancias genéticas, además de que dos de éstos se registraron en un sólo individuo como genotipo heterocigoto y que *R. mangle* por su alto potencial de dispersión, tiene mayor posibilidad que *A. germinans*, de recibir propágulos viables de otras poblaciones (Rabinowitz, 1978).

De acuerdo a esto, los nuevos alelos encontrados en la población de Altata, pueden provenir de los bosques de mangle de la península de Baja California, ya que la población de Altata, se ubica justo en la entrada del Golfo de California, donde hay un aporte de masas de agua provenientes de Baja California Sur (Blanco-Betancourt, 1996). Sin embargo, es necesario expandir el análisis y evaluar la diversidad genética de los bosques de *R. mangle* en la península, para confirmar la presencia de éstos alelos en las poblaciones de Baja California Sur.

Estructura Genética

Ambos índices de diferenciación genética (F_{ST} y R_{ST}), aplicados en *A. germinans* y *R. mangle*, muestran evidencia de estructura genética entre las poblaciones analizadas. De acuerdo al modelo de alelos infinitos (IAM), *A. germinans* presentó un mayor grado de diferenciación genética que el encontrado para *R. mangle*. Aún a pesar de esto, a través de la prueba exacta de diferenciación poblacional, se evidenció la existencia de dos poblaciones para *A. germinans*, la primera conformada por los individuos de El Jitzámuri y la segunda que agrupa a los de Altata y Teacapán. Para *R. mangle*, aun cuando el índice de diferenciación genética fue menor al encontrado en *A. germinans*, la prueba exacta indicó la presencia de estructura genética entre las tres localidades analizadas.

Los valores estimados de F_{ST} (0.06 para *R. mangle* y 0.12 para *A. germinans*) indican una moderada diferenciación genética, entre las poblaciones analizadas (Balloux y Lugon-Moulin, 2002). Estos valores son ligeramente menores a los detectados en *A. germinans* por Dodd *et al.* (2002), quienes reportaron valores de 0.17, a través de AFLPs en poblaciones separadas por al menos 10,000 km de distancia, a lo largo del litoral del oeste de África. Así mismo, estos valores son menores a los reportados por Maguire *et al.* (2000b), quienes detectaron valores de F_{ST} de hasta 0.41 mediante el análisis de *loci* de microsatélites aplicado a poblaciones de *A. marina*, ubicadas a todo lo largo de su distribución.

Arnaud-Haond *et al.* (2006), reportaron valores de F_{ST} de hasta 0.25 en una distancia de entre 10 y 100 km, entre las localidades cercanas a su límite de distribución. En el presente estudio, la distancia geográfica entre las localidades más distantes es de aproximadamente 656 km, a los que correspondieron valores de F_{ST} de 0.17 para *A. germinans* y de 0.09 para *R. mangle*, ambos valores estadísticamente significativos, pero menores a los reportados por Arnaud-Haond *et al.* (2006), lo cual indica que las poblaciones analizadas

mantienen un flujo genético que ha evitado mayor divergencia entre las poblaciones.

Considerando que *R. mangle* presenta un mayor potencial de dispersión que *A. germinans* (Rabinowitz, 1978) y que el flujo genético tiende a reducir la estructura genética de las poblaciones, al propiciar el intercambio de genotipos entre éstas, es lógico encontrar que *R. mangle* presente un menor grado de estructuración genética entre sus poblaciones.

Por otro lado, en *R. mangle*, el índice de diferenciación genética F_{ST} , obtenido al aplicar el modelo de mutación por pasos, se incrementó considerablemente, de 0.06 a 0.47, obtenido de su índice análogo R_{ST} al aplicar el modelo de mutación de alelos infinitos (IAM), lo cual es un efecto de la presencia de alelos con una amplia distancia genética, que probablemente provienen de otras poblaciones cercanas, ya sea del sur de Teacapán o de la península de Baja California. Este mismo patrón fue observado en *A. marina* por Maguire *et al.* (2000b), cuyos índices de diferenciación genética se incrementaron de 0.41 a 0.71 al usar F_{ST} y R_{ST} , respectivamente.

La diferenciación genética de plantas cuyas semillas se dispersan pasivamente, se ve influenciada, además de por su potencial de dispersión, por su tipo de reproducción, vectores de polinización, tiempo de viabilidad, presencia de sustratos adecuados, corrientes oceánicas y distancia geográfica, así como factores históricos tales como deriva continental, formación de barreras terrestres y periodos de glaciación que producen variaciones en la temperatura y periodos de trasgresión marina (Dodd *et al.*, 2002).

En el presente estudio, el mayor porcentaje de diferenciación genética (90%) se observó entre los individuos de una misma población, lo cual se ha observado en otras especies de plantas con reproducción sexual donde el intercambio

genético con las poblaciones cercanas no ha sido interrumpido por completo (Loveless y Hamrick 1984).

En cuanto a los períodos de floración, *A. germinans* al presentar un solo período de floración en el año (verano) y al ser una especie protándrica cuyas flores son polinizadas principalmente por insectos, la dispersión se limita a las áreas locales, donde estos insectos habitan, por lo que es más probable la formación de poblaciones locales e incrementar la estructura genética entre las poblaciones. En contraste, *R. mangle* al presentar flores durante todo el año y polinización inducida principalmente por el viento (Tovilla y Orihuela, 2002), posee un mayor potencial de dispersión y de polinizar individuos de otras poblaciones, minimizando con ello la fragmentación y la estructuración de sus poblaciones.

Los resultados aquí presentados, contrastan con los reportados por Moreno-Medina (2007), quien a través de la secuencia del gen MatK, en las especies de *A. germinans* y *R. mangle*, no detectó evidencia de estructura genética entre las localidades analizadas. Es importante resaltar la diferencia en el potencial de resolución de la secuencia del gen MatK, comparado con la de los microsatélites y que en ambos estudios se analizó a los mismos individuos de mangle.

De acuerdo a lo anterior, es posible indicar que la diferenciación genética, detectada en el presente estudio puede deberse al polimorfismo y a la alta tasa de mutación de los microsatélites (cientos de años), a diferencia de la que pueda presentar la secuencia del gen del cloroplasto MatK (miles a millones de años), (Selkoe-Toonen *et al.*, 2006), característica que les confiere a los microsatélites, mayor resolución para detectar los cambios producidos en periodos de tiempo relativamente cortos.

Comparando los resultados obtenidos por Moreno-Medina (2007), con los del presente estudio, además de la resolución misma del marcador, es posible que las poblaciones se estén diferenciando recientemente y esto puede estar relacionado a la fragmentación y alteración del hábitat que han sufrido los ecosistemas de manglar en las últimas décadas, producto del incremento de actividades humanas sobre la zona costera del estado de Sinaloa.

Consideraciones sobre el manejo del programa de repoblación en Sinaloa

De acuerdo a los resultados obtenidos, donde se observa que la diversidad genética de las poblaciones del centro y sur del litoral de Sinaloa es mayor a la de la población del norte y que ésta última comparte un menor número de genotipos con las primeras, se recomienda el establecimiento de, al menos dos viveros para la producción de plantas de *A. germinans*.

Uno de los viveros deberá ubicarse en la población de El Jitzámuri y el otro, en cualquier punto intermedio entre las poblaciones de Altata y Teacapán, ya que las diferencias genéticas entre estas localidades no fueron significativas. Por otro lado, aún cuando la distribución de la diversidad genética en *R. mangle* presentó el mismo patrón observado en *A. germinans*, el hecho de no haber detectado el intercambio de genotipos entre las poblaciones sugiere que la mejor estrategia de conservación es el establecimiento de un vivero para la producción de plantas de *R. mangle* en cada cuerpo acuático costero.

Sin embargo, dado que los costos de instalación y mantenimiento de los viveros son elevados y que pudieran salir del presupuesto de los recursos asignados para el programa de reforestación del Estado de Sinaloa, considero que el establecimiento de al menos dos viveros, en el que se produzcan plantas de ambas especies, sería suficiente para conservar su diversidad genética, debido a que las poblaciones de Altata y Teacapán, exhibieron una mayor similitud genética entre éstas que con la de El Jitzámuri.

El escenario menos recomendable en términos de la conservación de la diversidad genética de las poblaciones nativas, sería el establecimiento de un sólo vivero para reforestar todo el litoral del Estado de Sinaloa. Esto porque al reforestar con plantas de mangle cuyo genotipo sea diferente al de las poblaciones nativas se estaría alterando el pool genético original y a través del tiempo, se estaría induciendo a la homogeneidad genética de las poblaciones, lo cual es poco recomendable para el éxito evolutivo del ecosistema y el mantenimiento de sus especies al reducir paulatinamente su capacidad de responder y adaptarse a los cambios ambientales y espaciales a los que están sujetas las especies de mangle (Bartleson *et al.*, 2003).

CONCLUSIONES

- Ambas especies de mangle mostraron una baja diversidad genética, equiparable a la de otras especies de mangle cercanas a su límite de distribución.
- En ambas especies, se observó un patrón de disminución de la diversidad genética hacia el norte del litoral del Estado.
- *A. germinans* presenta una estructura genética caracterizada por la presencia de dos poblaciones a lo largo del litoral del Estado de Sinaloa.
- *R. mangle* presenta una estructura genética con tres poblaciones a lo largo del litoral del Estado de Sinaloa.
- En ambas especies se observó que los bosques de la región centro y sur del litoral del Estado presentaron menor grado de diferenciación genética, con respecto al de la región norte del litoral.
- Considerando la similitud genética entre las poblaciones del centro y sur, así como la estructura con respecto a la del norte se recomienda, como alternativa más viable en cuanto a preservación de diversidad genética, la creación de dos viveros para el programa de repoblación: uno para reforestar en las regiones del sur-centro y otro para la región norte del litoral del Estado de Sinaloa.

LITERATURA CITADA

- ARNAUD-HAOND, S., S. Teixeira, S. I. Massa, C. Billot, P. Saenger, G. Coupland, C. M. Duarte y E. A. Serrao, 2006. Genetic structure at range edge: low diversity and high inbreeding in Southeast Asian mangrove (*Avicennia marina*) populations. *Molecular Ecology*; 15: 3515-3525.
- AKSORNKOAE, S., 1993. Ecology and Management of Mangroves. IUCN, Bangkok, Thailand, 176 pp.
- BABA, S., K. Ogino y T. Naksuga, 1989. Isozyme patterns of six mangrove tree species in Okinawa. *Galaxea*; 8: 79-83.
- BALAKRISHNA, P., 1995. Evaluation of intra-specific variability in *Avicennia marina* Forsk. using RAPD markers. *Current Science*; 69: 926-929.
- BALLMENT, E.R., T.J. Smith III. y J.A. Stoddaart, 1988. Sibling species in the mangrove genus *Ceriops* (*Rhizophoraceae*), detected using biochemical genetics. *Australian Systematic Botany*; 1:39-397.
- BALLOUX, F. y N. Lugon-Moulin, 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*; 11: 155-165.
- BARTLESON, S.M., E. Downs, J.F. Hall, R.C. Johnson, D.L. Lefebvre, J.T. Nielsen, R.L. Powell, G.R. Stallings, B. Wang y D. Wang, 2003. The genetic diversity of the red mangrove, *Rhizophora mangle*, in southern Florida. Howard Hughes Medical Institute. 11 P.
- BEACHAM, T.D., S. Pollard y K. D. Le, 2000. Microsatellite DNA population structure and stock identification of steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Nass and Skeena Rivers in Northern British Columbia. *Marine Biotechnology*; 2: 587-600.
- CARLSSON, J., J.R. McDowell, P. Díaz-Jaimez, J.E.L. Carlsson, S.B. Boles, J.R. Gold y J.E. Graves, 2004. Microsatellite and mitochondrial DNA analices of atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology*; 13: 3345-3356.
- CASTILLO-CÁRDENAS, M.F. y N. Toro-Perea, 2007. Development and characterization of the first microsatellite markers in the mangroves species *Pelliciera rhizophorae* Triana y Planchon. *Molecular Ecology Notes*; 7: 1232-1234.

- CERON-SOUZA, I., E. Rivera-Ocasio, S. M. Funk y W. Owen Mcmillan, 2006. Development of six microsatellite *loci* for black mangrove (*Avicennia germinans*). *Molecular Ecology Notes*; 6: 692–694
- CONABIO, 2008. Manglares de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México D.F. www.conabio.gob.mx. 38 p.
- CONTRERAS, E.F., 1993. Ecosistemas Costeros Mexicanos. Comisión Nacional de Biodiversidad y Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa. México, D.F; 415 p.
- DE LA FUENTE, G. y E. Carrera, 2005. Cambio de uso del suelo en la zona costera del estado de Sinaloa. Reporte Técnico. Ducks Unlimited de México A.C. Presentado a United States Forest Service. 148 p.
- DODD, R.S., Z. Afzal-Rafii, N. Kashani y J. Budrick, 2002. Land barriers and open oceans: effects on gene diversity and population structure in *Avicennia germinans* L. (*Avicenniaceae*). *Molecular Ecology*; 11: 1327–1338.
- DUKE, N.C., 1992. Mangrove floristics and biogeography. En: Robertson, A.I. y Alongi, D.M. (eds.). *Coastal and Estuarine Studies. Tropical Mangrove Ecosystems*. Washington, D.C. American Geophysical Union. pp 63–100.
- DUKE, N.C., J.A.H. Benzie, J.A. Goodall y E. Ballment, 1998. Genetic structure and evolution of species in the mangrove genus *Avicennia* (*Avicenniaceae*) in the Indo-West Pacific. *Evolution*; 52:1612–7626.
- ELLISON, A.M., E.J. Farnsworth y R.E. Merkt, 1999. Origins of mangrove ecosystems and the mangrove biodiversity anomaly. *Global Ecology and Biogeography*; 8: 95–115
- EXCOFFIER, L., 2006. Arlequín v. 3.1. An integrated software for population genetics data analysis. Zoological institute, University of Berne, Switzerland. <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>.
- FLORES-VERDUGO, F., F. González-Farías, O. Ramírez-Flores, F. Amescua-Linares, A. Yáñez-Arancibia, M. Alvarez-Rubio y J.W. Day, Jr., 1990. Mangrove ecology, aquatic primary productivity, and fish community dynamics in the Teacapán-Agua Brava lagoon-estuarine system (Mexican Pacific). *Estuaries*; 13(2): 219–230.

- FLORES-VERDUGO, F., F. González Farías, D.S. Zamorano y P. Ramírez García, 1992. Mangrove ecosystems of the Pacific Coast of México: Distribution, structure, litter fall and detritus dynamics. En: Seeliger U. (ed.). Coastal Plant Communities of Latin America. Academic Press, pp. 269-287.
- GE, X. y M. Sun, 1999. Reproductive biology and genetic diversity of a cryptoviviparous mangrove *Aegiceras corniculatum* (Myrsinaceae) using allozyme and intersimple sequence repeat (ISSR) markers. Molecular Ecology; 8: 2061-2070.
- GENG, Q.F., C.L. Lian, J.M. Tao, R.I. Qiu y T. Hogetsus, 2006. Development of microsatellite markers in mangrove tree species *Aegiceras corniculatum* (Myrsinaceae). Molecular Ecology Notes; 6: 1231-1233.
- GIANG, L.H., P.N. Hong, M.S. Tuan y K. Harada, 2003. Genetic variation of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) in Vietnam revealed by microsatellite and AFLP markers. Genes and Genetic Systems; 78: 399-407.
- GOLDSTEIN, D.B. y C. Schlötterer, 1999. Microsatellites: Evolution and Applications. Oxford University Press. New York; 352 p.
- GOODALL, J.A. y J.A. Stoddart, 1989. Techniques for the electrophoresis of mangrove tissue. Aquatic Botany; 35: 197-207.
- GREEN-RUIZ, C. y F. Pérez-Osuna, 2001. Heavy metal anomalies in lagoon sediments related to intensive agriculture in Altata-Ensenada del Pabellón coastal system (SE Gulf of California). Environment International; 26: 265-273.
- HERNÁNDEZ-CORNEJO, R., N. Koedam, A. Ruiz-Luna, M. Troell y F. Dadhouh-Guebas, 2005. Remote sensing and ethnobotanical assessment of the mangrove forest changes in the Navachiste-San Ignacio-Macapule lagoon complex, Sinaloa, Mexico. Ecology and Society; 10 (1): 16.
- HOGARTH, P.J., 1999. The Biology of Mangroves. Oxford University Press, New York, USA; 228 p.
- INE (Instituto Nacional de Ecología), 2005. Evaluación preliminar de las tasas de pérdida de superficie de manglar en México. Reporte técnico presentado a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 21 p.

- INNAN, H., R. Terauchi y N.T. Miyashita, 1997. Microsatellite polymorphism in natural populations of the wild plant *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*; 146: 1441-1452.
- ISLAM, M. S., C. Lian, N. Kameyama, B. Wus y T. Hogetsu, 2004. Development of microsatellite markers in *Rhizophora stylosa* using a dual-suppression-polymerase Chain reaction technique. *Molecular Ecology Notes*; 4: 110-112.
- JIAN, S., T. Tang, Y. Zhong y S. Shi, 2004. Variation in inter-simple sequence repeat (ISSR) in mangrove and non-mangrove populations of *Heritiera littoralis* (Sterculiaceae) from China and Australia. *Aquatic Botany*; 79: 75-86.
- KADO, T., A. Fujimoto, L.H. Giang, M. Tuan, P.N. Hong, K. Harada y H. Tachida, 2004. Genetics structures of natural populations of three mangrove species, *Avicennia marina*, *Kandelia candel* y *Lumnitzera racemosa*, in Vietnam revealed by maturase sequences of plastid DNA. *Plant Species Biology*; 19: 91-99.
- KATHIRESAN, K. y B.L. Bingham, 2001. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. *Marine Biology*; 40: 81-251.
- LAKSHMI, M., S. Rajalakshmi, M., Parani, C.S. Anuratha y A. Parida, 1997. Molecular phylogeny of mangroves I. Use of molecular markers in assessing the intraspecific genetic variability in the mangrove species *Acanthus illicifolius* Linn. (Acanthaceae) *Theoretic Applied Genetic*; 94: 1121-1127.
- LEWIS, P.O., y D. Zaykin, 2001. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0. Software gratuito, distribuido por sus autores; <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>
- LÓPEZ-PORTILLO, J. y E. Ezcurra, 2002. Los manglares de México: una revisión. *Madera y Bosques Número especial*; 27-51.
- LOPEZ V., J., R. Kersanach, S.A. Rehner y N. Knowlton, 1999. Molecular determination of species boundaries in corals: genetic analysis of the *Montastraea annularis* complex using Amplified Fragment Length Polymorphisms and a microsatellite marker. *Biology Bulletin*; 196: 80-93.
- McMILLAN, C., 1986. Isozyme Patterns among populations of black mangrove, *Avicennia germinans*, from the Gulf of Mexico-Caribbean and Pacific Panama. *Marine Science*; 29:17-25.

- MAGUIRE, T.L., K.J. Edwards, P. Saenger y R. Henry, 2000a. Characterization and analysis of microsatellite *loci* in a mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae). Theoretical and Applied Genetics; 101: 279-285
- MAGUIRE, T.L., P. Saenger, P. Baverstocks y R. Henry, 2000b. Microsatellite analysis of genetic structure in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk) Vierh. (Avicenniaceae). Molecular Ecology; 9: 1853-1862.
- MAGUIRE, T.L., R. Peakall y P. Saenger, 2002. Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs and SSRs. Theoretic Applied Genetic; 104: 388-398.
- MITTERMEIER, R. y C. Goettsch de Mittermeier, 1992. La importancia de la diversidad biológica de México. En Sarukhán J, Dirzo R (Comp.) México ante los retos de la biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México; 63-73.
- MORENO-MEDINA, S.C., 2007. Estructura genética de *Rhizophora mangle* L. y *Avicennia germinans* L. en tres cuerpos de agua costeros del Estado de Sinaloa, México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia. 66 p.
- NETTEL, A., F. Rafii y R.S. Dodd, 2005. Characterization of microsatellites markers for the mangrove tree *Avicennia germinans* L. (Avicenniaceae). Molecular Ecology Notes; 5: 103-105.
- NUÑEZ-FARFAN, J., C.A. Domínguez, L.E. Eguiarte, A. Cornejo, M. Quijano, J. Vargas y R. Dirzo, 2002. Genetic divergente among Mexican populations of red mangrove (*Rhizophora mangle*): geographic and historic effects. Evolutionary Ecology Research; 4: 1049-1064.
- ONG, J.E., 1995. The ecology of mangrove conservation and management. Hydrobiologia; 295: 343-351.
- PARANI, M., M. Lakshmi, S. Elango, N. Ram, C.S. Anurhata y A. Parida, 1997. Molecular phylogeny of mangroves III. Intra and inter-specific variation in *Avicennia* revealed by RAPD and RFLP markers. Genome; 40: 487-495.
- PARKER, P.G., A.A. Snow, M.D. Schug, G.C. Booton y P.A. Fuerst, 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. Ecology; 79 (2): 361-382.

- PRIMAVERA, J.H., 2000. Development and conservation of Philippine mangrove: institutional issues. *Ecological Economics*; 35: 91-106.
- RAMÍREZ, G., J. López y D. Ocaña, 1998. Mangrove vegetation assessment in the Santiago River Mouth, Mexico, by means of supervised classification using Landsat TM imagery; *Forest Ecology and Management*; 105 (1-3): 217-229.
- RABINOWITZ, D., 1978. Dispersal properties of mangroves propagules. *Biotropica*; 10: 47-57.
- RAYMOND, M. y F. Rousset, 1995. Genepop 3.4. Population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity*; 86: 248-249.
- RICO-GRAY, V., 1993. Origen y rutas de dispersión de los mangles: una revisión con énfasis en las especies de América. *Acta Botánica Mexicana*; 25: 1-13.
- ROBERTSON, B.C. y N.J. Gemmell, 2005. Microsatellite DNA markers for the study of population structure in the New Zealand fur seal *Arctocephalus forsteri*. *Doc Science Internal Series* 196, Department of Conservation Wellington. 18 p.
- ROMERO-SEDANO, J., E.A. Aragón-Noriega, M.M. Manzano-Sarabia, C.A. Salinas-Zavala y A.R. García-Juarez, 2004. Periodo reproductivo del camarón café *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1900) en la laguna costera de Agiabampo, Sonora/Sinaloa, México. *Ciencias Marinas*; 30 (3): 465-475.
- ROSERO-GALINDO, C., E. Gaitán-Solís, H. Cárdenas-Henao, J. Tohme y N. Toro-Perea, 2002. Polymorphic microsatellites in a mangrove species, *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae). *Molecular Ecology Notes*; 2: 281-283.
- RUÍZ LUNA, A. y C.A. Berlanga-Robles, (1999). Modifications in coverage patterns and land use around the Huizache- Caimanero lagoon system, Sinaloa, Mexico: A multi-temporal analysis using LANDSAT images. *Estuarine Coastal and Shelf Science*; 49(1): 37-44.
- SAENGER, P. y N.A. Siddiqi, 1993. Land from the sea: the mangrove afforestation program of Bangladesh. *Ocean and Coastal Manager*; 20: 23-39.
- SCHREY, A.W. y E.J. Heist, 2003. Microsatellite analysis of population structure in the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*). *Science*; 60: 670-675.

- SCHWARZBACH, A.E. y R.E. Ricklefs, 2000. Systematic affinities of *Rhizophoraceae* and *Anisophylleaceae*, and intergeneric relationships within *Rhizophoraceae*, based on chloroplast DNA, nuclear ribosomal DNA, and morphology. *American Journal Botany*; 87: 547-564.
- SCHWARZHACH, A.F. y R. F. Ricklefs, 2001. The use of molecular data in mangrove plant research. *Wetlands Ecology and management*; 9: 195-201.
- SELKOE, K.A. y R.J. Toonen, 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*; 9: 615-629.
- SHUBINA, E.A., E.V. Ponomareva y A.I. Glubokov, 2005. Microsatellite analysis of the population structure of the Bering Sea Pollock. CBS Pollock workshop. 17 p.
- SPALDING, M.D., F. Blasco y C. Field, 1997. *World Mangrove Atlas*. The International Society for Mangrove Ecosystems, Okinawa, Japan. 178 pp.
- SUN, M., K.C. Wong y S.Y. Lee, 1998. Reproductive biology and population genetic structure of *Kandelia candel* (*Rhizophoraceae*), a viviparous mangrove species. *American Journal Botany*; 85: 1631-1637.
- SZCZYS, P., C.R. Hughes y R.V. Kesseli, 2005. Novel microsatellite markers used to determine the population genetic structure of the endangered Roseate Tern, *Sterna dougallii*, in Northwest Atlantic and Western Australia. *Conservation Genetics*; 6: 461-466.
- TERRAB, A., O. Paun, S. Talavera, K. Tremetsberger, M. Arista y T.F. Stuessy, 2006. Genetic diversity and population structure in natural populations of moroccan atlas cedar (*Cedrus atlantica*: Pinaceae) Determined with cpSSR markers. *American Journal of Botany*; 93(9): 1274-1280.
- TEIXEIRA, S., S. Arnaud-Haond, C.M. Duarte y E. Serrao, 2003. Polymorphic microsatellite DNA markers in the mangrove tree *Avicennia alba*. *Molecular Ecology Notes*; 3: 544-546.
- TOMLINSON, P.B., 1994. *The Botany of Mangroves*. Cambridge University Press, Cambridge, UK; 419 p.
- TOVILLA-HERNANDEZ, C. 1994. Manglares, En: De la Lanza-Espino y Cáceres-Martínez Editores. *Lagunas Costeras y el Litoral Mexicano*. México. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 370-423 pp.

- TOVILLA-HERNANDEZ, C. y E. Orihuela-Belmonte, 2002. Manual de técnicas y métodos de restauración de zonas alteradas en manglares. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula Chiapas, México; 96 p.
- VALIELA, I., J.L. Bowen y J.K. York, 2001. Mangrove forest: one of the world's threatened major tropical environments. *Bioscience*; 51 (10): 807-815.
- WOODHEAD, M., J. Russell, J. Squirrell, P.M. Hollingsworth, K. Mackenzie, M. Gibby y W. Powell, 2005. Comparative analysis of population genetic structure in *Athyrium distentifolium* (Pteridophyta) using AFLPs and SSRs from anonymous and transcribed gene regions. *Molecular Ecology*; 14: 1681-1695.
- WRIGHT, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*; 19:395-420.
- YING-CHUN, Q., S. Xiao-Wen y L. Li-Qun, 2006. Genetic polymorphism of microsatellite DNA in two populations of northern sheatfish (*Silurus soldatovi*). *Acta Genetica Sinica*; 33 (10): 908-916.

