



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
División Académica de Ciencias Biológicas



**“DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA DE POBLACIONES DE MANATÍ
(*Trichechus manatus manatus*) EN EL ESTADO DE
TABASCO”**

Trabajo recepcional, en la modalidad de:

Tesis

Para obtener el título en:

Licenciatura en Biología

Presenta:

María Arellano Sosa

Directoras:

Dra. Julia María Leshner Gordillo
M. en C. Guadalupe Gómez Carrasco

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Diversidad Haplotípica De Poblaciones De Manatí (*Trichechus Manatus Manatus*) En El Estado De Tabasco

Por María Arellano Sosa

CANTIDAD DE PALABRAS 12295

HORA DE ENTREGA

27-JUN-2025 11:36A. M.

NÚMERO DE
IDENTIFICACIÓN DEL
TRABAJO

116953689

Diversidad Haplotípica De Poblaciones De Manatí (Trichechus Manatus Manatus) En El Estado De Tabasco

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	www.gob.mx Internet	490 palabras — 5%
2	www.researchgate.net Internet	151 palabras — 2%
3	docplayer.es Internet	145 palabras — 1%
4	tabasco.gob.mx Internet	130 palabras — 1%
5	sibeservicios.ecosur.mx Internet	108 palabras — 1%
6	revistas.ujat.mx Internet	107 palabras — 1%
7	repositorioinstitucional.uabc.mx Internet	100 palabras — 1%
8	www.scielo.org.mx Internet	84 palabras — 1%
9	c3.usac.edu.gt Internet	81 palabras — 1%
10	documentop.com Internet	59 palabras — 1%

11	simec.conanp.gob.mx Internet	52 palabras — 1 %
12	1library.co Internet	49 palabras — < 1 %
13	www.oceandocs.org Internet	36 palabras — < 1 %
14	rsis.ramsar.org Internet	25 palabras — < 1 %
15	www.elsevier.es Internet	25 palabras — < 1 %
16	doczz.net Internet	24 palabras — < 1 %
17	www.repositorio.usac.edu.gt Internet	23 palabras — < 1 %
18	upc.aws.openrepository.com Internet	19 palabras — < 1 %
19	es.unionpedia.org Internet	18 palabras — < 1 %
20	www.scribd.com Internet	18 palabras — < 1 %
21	biblio.uabcs.mx Internet	15 palabras — < 1 %
22	www.kerwa.ucr.ac.cr Internet	14 palabras — < 1 %
23	datospdf.com Internet	13 palabras — < 1 %

24	multimedia20stg.blob.core.windows.net Internet	13 palabras — < 1%
25	pulsoslp.com.mx Internet	13 palabras — < 1%
26	rsdjournal.org Internet	13 palabras — < 1%
27	www.repositoriodigital.ipn.mx Internet	13 palabras — < 1%
28	ri.ujat.mx Internet	12 palabras — < 1%
29	test-www.minambiente.gov.co Internet	12 palabras — < 1%
30	transparencia.tabasco.gob.mx Internet	12 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS

< 12 PALABRAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

JUNIO 08 DE 2022

**C. MARÍA ARELLANO SOSA
PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA DE POBLACIONES DE MANATÍ *Trichechus manatus manatus* EN EL ESTADO DE TABASCO"**, asesorado por la Dra. Julia María Lesher Gordillo y M. en C. Guadalupe Gómez Carrasco, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por el Dr. León David Olivera Gómez, M. en C. Darwin Jiménez Domínguez, Dra. Julia María Lesher Gordillo, Dra. Claudia Elena Zenteno Ruiz y M. en C. Kenia Laparra Torres

**A T E N T A M E N T E
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**

**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR**

**U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **“DIVERSIDAD HAPLOTÍPICA DE POBLACIONES DE MANATÍ *Trichechus manatus manatus* EN EL ESTADO DE TABASCO”**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 06 de Junio de Dos Mil Veintidós.

AUTORIZO



MARÍA ARELLANO SOSA

DEDICATORIA

A mi mamá, mi más grande apoyo.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco todo el apoyo de la Dra. Julia, desde su accesibilidad para pertenecer al laboratorio y aprender las bases de la genómica hasta su guía como asesora, sin su comprensión e interés por mi aprendizaje no habría podido realizar mi tesis.

Agradezco a la maestra Lupita por su asesoría para muchos detalles de mi trabajo. Gracias Dr. León por su disponibilidad y acertadas sugerencias. Agradezco en especial al maestro Darwin por su guía para darle un mejor sentido a mi trabajo y su actitud para facilitarme los conocimientos para entender mejor a los manatíes.

Gracias a todas las personas que pusieron un granito de arena para la realización de este proyecto, desde los involucrados en la toma de muestras hasta los integrantes del Laboratorio de Genómica. Cada acción fue valiosa para mí.

Agradezco especialmente a mi amigo, compañero de aprendizaje y risas en el laboratorio, Juan, por hacer más amena mi estancia ahí.

Gracias a las dos personas que me motivaron a seguir cuando todo parecía muy difícil de lograr, por compartir los momentos más estresantes y más divertidos de este viaje de casi cinco años, Geny y Perla, estaré siempre agradecida porque la biología uniera nuestros caminos.

Gracias G por ser el mejor apoyo que pude tener, por cuidar de mí cada día para ir y regresar de la universidad, por esperarme fuera del laboratorio por muchas horas sin quejarte y por tu compañía incondicional, aunque no te pudiera ver.

Agradezco a mis padres por apoyar mi decisión de dedicarme a la investigación, sabiendo que me compartirían por mucho tiempo con un laboratorio, una computadora y varios libros. Gracias a mi hermana por sembrar en mí la curiosidad por la ciencia.

Gracias a todos los maestros que me mostraron lo hermosa que es la biología, los que enseñan con pasión, con alegría y con empatía, espero seguir sus pasos.

RESUMEN

Conocer la diversidad genética de poblaciones de especies en peligro de extinción es importante para la toma de decisiones relacionadas con su conservación. Tabasco posee características fisiográficas e hidrológicas adecuadas para el manatí antillano, que se establece en sistemas fluviolagunares interconectados que propician su desplazamiento. Diferentes cambios, tanto naturales como las variaciones en los niveles de agua de acuerdo a los periodos de sequía y lluvia, como aquellos que han sido resultado de las actividades humanas, pueden llegar a representar una amenaza a la diversidad genética de estas poblaciones. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue conocer la diversidad haplotípica de las poblaciones que habitan en cuerpos de agua de algunos de los municipios de Tabasco, incluyendo la población aislada de la Laguna de las Ilusiones y adicionalmente, una población en semi aislamiento de Chiapas. Se analizaron un total de 34 muestras de piel, 19 de ellas pertenecientes a una población abierta, distribuida en varios municipios de Tabasco, 9 procedentes de la población aislada de la Laguna de las Ilusiones y 6 de la población semi aislada de la Laguna de Catazajá, Chiapas. El ADN se extrajo y se amplificó utilizando 5 pares de primers de ADNmt previamente probados, tres de ellos correspondientes a la región del citocromo B, un par perteneciente al gen 12S ARNr y otro par de la región control. Se realizó un análisis de frecuencias y se obtuvo el valor de diversidad haplotípica (h) con el software GenAlEx. Los resultados obtenidos demuestran que tanto la población abierta como la aislada mantienen una diversidad haplotípica moderada respecto a otras poblaciones de mamíferos y alta comparada con resultados previos de diferentes poblaciones de manatí antillano. La población aislada mostró la mayor diversidad haplotípica, mientras que la menor se obtuvo de la población en semi aislamiento.

TABLA DE CONTENIDOS

1. Introducción	1
2. Antecedentes.....	3
2.1 Descripción biológica de la especie	3
2.2 Hábitat.....	4
2.3 Historia de vida y reproducción.....	5
2.4 Fisiología y comportamiento	5
2.5 Distribución nacional histórica y actual.....	5
2.6 Tamaño poblacional	6
2.7 Principales amenazas	7
2.8 Genética de la Conservación	10
2.9 Estudios genéticos con <i>T. manatus manatus</i>	13
3. Justificación	15
4. Objetivos	17
5. Área de estudio	17
6. Metodología	22
6.1 Material biológico	22
6.2 Extracción y amplificación de ADN.....	24
6.3 Análisis bioinformático de datos.....	25
7. Resultados	25
8. Discusión.....	29
9. Conclusiones	33
10. Referencias.....	35
Anexo I.....	42

LISTA DE CUADROS

Tabla 1. Primers utilizados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)...	24
Tabla 2. Valores promedio y desviación estándar total y por grupo.....	27
Tabla 3. Tamaño de la muestra (N), número de alelos/haplotipos (Na), número de alelos/haplotipos efectivos (Ne), índice de información (I), diversidad haplotípica (h) y diversidad insesgada por locus (uh).....	27
Tabla 4. Valores de diversidad haplotípica (h) obtenida en estudios previos con poblaciones de <i>T. manatus</i> en México.....	29
Tabla 5. Listado de muestras, procedencia y grupo asignado para su análisis.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Manatí antillano (<i>T. manatus manatus</i>).....	3
Figura 2. Mapa de las localidades muestreadas.....	20
Figura 3. Reserva Ecológica Laguna de las Ilusiones, localizada en el municipio de Centro, Tabasco.	21
Figura 4. Área Natural Protegida Sistema Lagunar Catazajá, municipio de Catazajá, Chiapas	21
Figura 5. Amplificaciones obtenidas a partir de los primers CYTB1F-CYTB1R y CYTB1F-CYTB2R de la región Citocromo B del ADNmt con muestras de piel de manatíes de Tabasco.....	26
Figura 6. Análisis de Coordenadas Principales mediante matriz de covarianza con estandarización de datos (PCoA). Los puntos representan cada una de las muestras analizadas. Las muestras ordenadas más cerca unas de otras son más similares que las ordenadas más lejos. Muestras pertenecientes a la Laguna de las Ilusiones (LI), Población Abierta (PA), Chiapas (CH).....	28

1. Introducción

Los estudios genéticos han asumido un papel importante en la biología de la conservación moderna. Su capacidad de aportar información acerca de la endogamia y la pérdida de diversidad genética ha permitido que cada vez se desarrollen y estandaricen técnicas que permitan contribuir con información más precisa a los estudios poblacionales con fines de conservación (Moritz, 1994, Cornejo *et al.*, 2014). Las estimaciones de diversidad genética basadas en datos mitocondriales a menudo usan el parámetro h como medida de diversidad de haplotipos, la cual describe el número y la frecuencia de diferentes haplotipos mitocondriales y es el equivalente de heterocigosidad para los loci haploides (Freeland, 2005). Una de las aplicaciones relativamente recientes y exitosas de los análisis con ADNmt es la cuantificación de la variación genética en poblaciones naturales, especialmente aquellas que han tenido un declive reciente (Moritz, 1994; Avise, 2000).

En México habita la especie *Trichechus manatus* (subespecie *Trichechus manatus manatus*), que también habita la península de Florida, islas del Mar Caribe, y costa Atlántica de centro y Sudamérica, hasta Brasil (SEMARNAT, 2018). Esta especie se considera en peligro de extinción en México, por lo que su uso y comercio entre países está regulado (CITES, 2009; SEMARNAT, 2010) además, las tres especies de manatí están incluidas en la categoría de vulnerable a nivel internacional (UICN, 2021). La subespecie *T. manatus manatus* se distribuía históricamente en todos los estados del Golfo de México, desde Tamaulipas hasta la costa de Quintana Roo (Colmenero-Rolón, 2005; SEMARNAT, 2018). Sin embargo, las poblaciones se han reducido considerablemente en las últimas décadas como resultado de la sobreexplotación, la contaminación y destrucción de su hábitat (Nourrison *et al.*, 2011), limitando su distribución a tres regiones en el sureste del país: 1) la región de los ríos y estuarios de Veracruz; 2) la región en la

cuenca de los ríos Grijalva y Usumacinta, y 3) la región que comprende la costa caribeña y el río Hondo en Quintana Roo (SEMARNAT, 2018).

En México se han realizado numerosos estudios ecológicos con esta subespecie, sin embargo, desde hace relativamente poco tiempo se ha fomentado la importancia de hacer también estudios genéticos. En la mayor parte de éstos han utilizado ADNmt para determinar y comparar la estructura filogeográfica de las poblaciones, (Vianna *et al.*, 2006; Robles-Saavedra *et al.*, 2009), mientras que otros emplearon microsatélites con el fin de definir poblaciones y estimar valores de diversidad (Nourisson *et al.*, 2011). Las poblaciones de manatí del Caribe mexicano han sido las más estudiadas, ya que de ellas se tiene información más confiable a nivel de estructura genética con marcadores tanto nucleares como mitocondriales, mientras que de las poblaciones del Golfo de México aún son necesarios más estudios (Gómez-Carrasco *et al.*, 2016).

Los manatíes aprovechan la heterogeneidad ambiental de Tabasco, que posee un complejo sistema de lagunas con arroyos interconectados que se ven modificados durante los periodos de sequías, lo que ocasiona varamientos de individuos (Jiménez-Domínguez y Olivera-Gómez, 2014). Además, la dinámica hidrológica de la región también se ve potenciada por diversas actividades humanas (que incluyen la deforestación, drenado de canales, obras hidráulicas para riego o control de inundaciones y actividades industriales), propiciando la sedimentación de accesos a lagunas individuales o sistemas lagunares complejos. Este fenómeno ha resultado en ciertos casos de aislamiento de poblaciones de manatíes (Olivera-Gómez, 2007).

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue estimar la diversidad haplotípica de las poblaciones de manatíes de algunos sistemas fluvio-lagunares del estado de Tabasco, usando ADNmt, para determinar la variación genética e historia reciente, con la finalidad de generar información que pueda ser usada para implementar medidas de conservación y manejo en la especie

2. Antecedentes

2.1 Descripción biológica de la especie

El manatí antillano es robusto, de cuerpo fusiforme, de movimientos lentos pero hidrodinámico, piel extremadamente gruesa y rugosa de color grisáceo, aunque el color varía de acuerdo a la edad. Al nacer miden entre 90 y 100 cm, mientras que los adultos pueden alcanzar más de 3m de longitud y pesar entre 500 y 600 kg



Figura 1. Arriba: Manatí antillano (*T. manatus manatus*) en hábitat natural. Fotografía de dominio público. Abajo: ejemplar bajo cuidados de personal de la División Académica de Ciencias Biológicas de la UJAT.

(SEMARNAT, 2018). Posee un par de aletas pectorales en forma de remo, provistas de tres a cuatro uñas a los extremos. La aleta caudal es aplanada y redonda. A lo largo del cuerpo presenta irregularmente pelo muy delgado y escaso, apenas visible. Su hocico es chato y posee labios flexibles carnosos provistos de cerdas gruesas y cortas llamadas vibrisas, que tienen funciones sensoriales, sobre el hocico también se ubican las narinas, que se cierran al sumergirse. Sus ojos son muy pequeños y están rodeados de un músculo en forma de esfínter que hace las veces de párpados, además poseen una membrana translúcida que les facilita la visión bajo el agua. Sus orejas no presentan pabellón externo, carece de dientes incisivos y caninos, mientras que los molares se reemplazan continuamente a lo largo de su vida (Flores-Cascante, 2010). No presentan dimorfismo sexual visible, las hembras suelen ser ligeramente más grandes que los machos, pero el tamaño del cuerpo no puede utilizarse para determinar ni el sexo ni la edad de un individuo, sin embargo, la única diferenciación considerable es la ubicación de la abertura urogenital, en los machos la apertura genital se encuentra en el abdomen, entre el ano y el ombligo, mientras que en las hembras está cerca del ano y los ovarios están localizados en el límite extremo inferior de la cavidad del cuerpo (Flores-Cascante, 2010).

2.2 Hábitat

El manatí antillano habita en una gran variedad de ambientes, como arroyos, ríos, lagunas continentales, zonas costeras, inundables y estuarios (Lefebvre *et al.*, 2001). Todos estos ambientes reúnen los requerimientos más importantes: la cercanía a fuentes de agua dulce y una abundante vegetación acuática para asegurar la disponibilidad de alimento, la preferencia de zonas someras (frecuentemente menores a 5m de profundidad) cercanas a otras más profundas (Olivera-Gómez y Mellink, 2005) y zonas con baja o nula actividad antrópica (Ortega-Argueta, 1997).

2.3 Historia de vida y reproducción

Los manatíes son mamíferos longevos, se sabe que el manatí de mayor edad en Florida fue de 59 años (Marmontel, 1993). El periodo de gestación es de 12 a 14 meses, siendo de una sola cría la mayoría de los partos, los casos de gemelos son inusuales y la proporción de sexos es de 1:1. Aunque la actividad sexual puede ocurrir en cualquier época del año, los manatíes tienen una baja tasa reproductiva, alcanzan su madurez sexual entre los tres y los seis años de edad (O'Shea y Hartley, 1995).

2.4 Fisiología y comportamiento

Son herbívoros generalistas monogástricos, fermentan el alimento en el intestino posterior con largas secciones de intestino para procesarlo, lo que los hace altamente eficientes en la digestión de celulosa (Reep y Bonde, 2006).

Se conocen pocos detalles de la estructura social del manatí, se consideran animales solitarios, sin embargo, tienden a agruparse casualmente en áreas de alimentación o en época de celo (Hartman, 1979; Acosta-Tafoya, 2014). La relación social más estable es la de la madre con la cría.

2.5 Distribución nacional histórica y actual

La distribución del manatí abarcaba todos los estados del Golfo de México, desde Tamaulipas hasta la costa de Quintana Roo (Colmenero-Rolón y Hoz-Zavala, 1986; Morales-Vela *et al.*, 2003; Colmenero-Rolón, 2005). Se documentó que en la década de los 60 vivían extensas poblaciones de manatíes en los principales ríos del norte de Chiapas, así como en las costas de Quintana Roo y la península de Yucatán. A finales de 1970 y mediados de 1980 se registró una disminución de individuos desde las costas de Champotón (Campeche) hasta Cancún (Quintana Roo), en cambio, se registraron poblaciones abundantes desde la laguna de Términos (Campeche) hasta la laguna de Alvarado (Veracruz) (Colmenero-Rolón y Hoz-Zavala, 1986; Daniel-Rentería, 2012).

Diversos factores han ocasionado que la distribución actual de los manatíes en México se limite principalmente a tres regiones: 1) La región de los ríos y estuarios del estado de Veracruz (principalmente centro y sur del estado); 2) la región de las cuencas hidrológicas de los ríos Grijalva y Usumacinta en Tabasco, Chiapas y sur de Campeche, particularmente en la Laguna de Términos y los ríos Palizada, Candelaria y Chumpán; y 3) la región costera del Mar Caribe desde Holbox hasta el río Hondo en Quintana Roo. Actualmente no se tiene registros de la presencia de manatíes en Tamaulipas (Arriaga y Contreras, 1994; Colmenero-Rolón y Hoz-Zavala, 1986; Morales y Olivera, 1997; Ortega-Argueta, 1999; Morales-Vela *et al.*, 2000; Olivera-Gómez y Jiménez-Domínguez, 2010).

En Tabasco, debido a la gran extensión de zonas lagunares y ríos interconectados que conforman el hábitat disponible, los manatíes se encuentran principalmente en los humedales interiores de la cuenca de los ríos Grijalva y Usumacinta, abarcando la Reserva de la Biósfera de Pantanos de Centla (Colmenero-Rolón y Hoz-Zavala, 1986; Arriaga y Contreras, 1993; Olivera-Gómez, 2007; Puc *et al.*, 2017; Jiménez-Domínguez y Olivera-Gómez, 2019; SEMARNAT, 2020). Aunque Chiapas no tiene litoral en el Golfo de México, en su parte norte existe una zona importante para la distribución del manatí en la cuenca del río Usumacinta, que se comunica con Tabasco a través de los ríos Chico y Chacamax, por ello se considera que los manatíes de Chiapas y Tabasco pertenecen a una misma población de la cuenca del Usumacinta (Colmenero-Rolón y Hoz-Zavala, 1986).

2.6 Tamaño poblacional

De acuerdo a los datos recientes que se consideran para México, basados en las estimaciones de expertos nacionales en áreas puntuales (Rodas-Trejo *et al.*, 2008; Puc-Carrasco *et al.*, 2017; Serrano *et al.*, 2017), se considera que existen entre 800 y 1100 manatíes, de 200 a 250 de ellos se encontrarían en las costas de Quintana Roo y entre 600 a 850 en el Golfo de México, concentrados en su mayoría en las cuencas hidrológicas de Tabasco, Chiapas, en la Laguna de Términos y ríos

tributarios de Campeche y en la Laguna de Alvarado y ríos en el sur y centro de Veracruz (SEMARNAT, 2020).

2.7 Principales amenazas

Caza

Hasta finales del siglo pasado, la caza era una actividad que se practicaba en todo el ámbito de distribución del manatí, ya que en algunas comunidades se aprovechaban la carne y la manteca como alimento, se ocupaban los huesos con fines medicinales y ornamentales (Ortega-Argueta *et al.*, 2001). La caza aún se registra esporádicamente en algunas comunidades del sureste de México, debido a la falta de vigilancia de autoridades ambientales, el desconocimiento de la legislación por parte de la población o por tradición.

Captura incidental en redes de pesca

Las malas prácticas de pesca representan una amenaza para los manatíes, ya que se han reportado rescates de enmalles y muertes por redes de pesca. Esto se ha observado en la Laguna de Alvarado, Laguna de Catazajá y algunas lagunas y arroyos de Tabasco, Campeche y Quintana Roo (Colmenero-Rolón y Hoz-Zavala, 1986; Colmenero-Rolón, 1991; Ortega-Argueta *et al.*, 2001; Gobierno del Estado de Chiapas, 2019).

Colisión con embarcaciones

Aunque en menor grado, las colisiones con embarcaciones asociadas a las actividades de exploración y explotación petrolera, torneos de pesca deportiva y turismo no regulado se han registrado en Tabasco, Chiapas, Campeche y Quintana Roo (Colmenero-Rolón y Hoz-Zavala, 1986; Rodas-Trejo *et al.*, 2008; Morales-Vela y Padilla-Saldivar, 2009; Olivera-Gómez y Jiménez-Domínguez, 2010; Castelblanco-Martínez *et al.*, 2020), de las cuales los manatíes resultan con fracturas de costilla, hematomas y diversas lesiones.

Enfermedades infecciosas y no infecciosas

La incidencia de enfermedades es generalmente ocasionada por el aumento de sustancias contaminantes y disruptores endocrinos en los cuerpos de agua, así como por la interacción con especies domésticas y con las personas (SEMARNAT, 2020). También se han detectado infecciones por *Clostridium* spp. en los manatíes, así como múltiples serovariedades de *Leptospira interrogans* y mortalidad asociada a *Microsporidea* spp (Buergelt *et al.*, 1984; Hernández-Olascoaga *et al.*, 2017). Otro aspecto importante es la inmunodepresión que presentan algunos individuos, que los hace vulnerables a enfermedades como el virus del papiloma, parasitemias e infecciones digestivas (Bossart *et al.*, 2002). En México, esta condición puede ser resultado del estrés ambiental ocasionado por la falta de alimento, temperaturas elevadas, presencia continua de contaminantes, una mala calidad del agua e incluso la reducción del tamaño poblacional, que a su vez es causa de una baja diversidad genética, lo que en una población pequeña se traduce en una mayor sensibilidad ante infecciones y a la complicación de enfermedades (Rector *et al.*, 2004; Gómez-Carrasco *et al.*, 2018).

La intoxicación por cianotoxinas también ha sido reportado como amenaza, como en el caso de la contingencia de mortandad de manatíes en Tabasco durante 2018, en el cual después de varias hipótesis atribuyeron los decesos a la presencia de 4 especies de cianofíceas generadoras de cianotoxinas altamente peligrosas, cuyos florecimientos fueron detonados por múltiples factores, entre ellos excretas de cormoranes y patos silvestres, altas temperaturas, eutrofización y retraso de la época de lluvias (SEMARNAT/PROFEPA, 2018).

Contaminación, pérdida y fragmentación del hábitat

Existe una gran diversidad de sustancias que terminan en los cuerpos de agua y que representan una amenaza para los mamíferos acuáticos, tales como agroquímicos, pesticidas, hidrocarburos, metales pesados, sustancias de desecho de múltiples actividades industriales. Se han documentado niveles importantes de

contaminantes químicos, orgánicos, metales pesados, organoclorados y organofosforados en tejidos óseos de manatíes (Romero-Calderón *et al.*, 2016).

Diferentes actividades humanas tienen impacto negativo directo o indirecto en el bienestar de los ecosistemas donde habita el manatí, entre ellas, las más preocupantes actualmente son el crecimiento urbano, turístico e industrial. La creación de infraestructura para el desarrollo turístico es una de las principales amenazas para las zonas de humedales costeros del país, ya que éstos han sido habitados históricamente por los manatíes (SEMARNAT, 2020). Por otra parte, la extensión de las actividades de agricultura y ganadería, con la consecuente disminución de la superficie de humedales, como en el caso del sistema lagunar de Alvarado en Veracruz, y la construcción de canales, presas y carreteras en las mismas zonas, han provocado la alteración de los flujos hídricos, ha ocasionado la desecación de cuerpos de agua y por ende, el aislamiento y fragmentación de hábitats, como en la laguna de Catazajá, en Chiapas (Ortega-Argueta, 2001; Rodas-Trejo *et al.*, 2008). Las actividades relacionadas a la industria petrolera son especialmente alarmantes en zonas lacustres de Veracruz, Tabasco y Campeche, ya que el desarrollo de grandes complejos industriales y la construcción de ductos, más allá de la contaminación, también ocasionan la destrucción de grandes áreas de humedales (Ortega-Ortiz *et al.*, 2004).

Los varamientos individuales y masivos de manatíes como resultado del desecamiento de lagunas y descenso del nivel del agua durante las temporadas de secas se han reportado en Chiapas y Tabasco, en cuyos casos es necesaria la asistencia de autoridades de gobierno, instituciones y comunidades locales para el manejo de los individuos (Olivera-Gómez y Jiménez-Domínguez, 2010).

Variabilidad genética

El aislamiento o semi aislamiento con mínimo intercambio de individuos a causa de la fragmentación de las poblaciones por la pérdida y degradación de su hábitat, a largo plazo puede provocar una partición genética, lo que condicionaría a los

individuos a una menor probabilidad de sobrevivir a un evento ambiental estocástico o a diversas enfermedades (SEMARNAT, 2020).

2.8 Genética de la Conservación

Los principios genéticos y las prácticas relacionadas con la conservación son conocidos como genética de la conservación. Esta nueva disciplina surge al hacerse evidentes varios problemas y cuestionamientos acerca de las especies en peligro de extinción. Por ende, una de sus principales aplicaciones es ayudar a minimizar las extinciones evitando los problemas relacionados con tamaños efectivos pequeños, como el efecto deletéreo de la endogamia, la pérdida de la diversidad y la habilidad para evolucionar en respuesta a los cambios ambientales, así como los efectos deletéreos que ocurren por la cruce entre individuos muy distintos (Frankham *et al.*, 2002; Eguiarte *et al.*, 2007).

La genética molecular puede facilitar la toma de decisiones informadas sobre la gestión de las poblaciones silvestres y en cautiverio (Freeland, 2005). La importancia de la genética en los programas de conservación radica en la dificultad de medir la diversidad genética y la variabilidad a nivel genético, ya que no son aspectos observables en los ecosistemas, y en algunos casos, este conocimiento y su manipulación es el único camino para salvar a las especies. El conocimiento genético no puede prevenir la pérdida de hábitat, pero contribuye a su restauración. La comprensión de la variabilidad adaptativa y la tolerancia de los recursos genéticos a condiciones ambientales adversas se traduce en una mayor probabilidad de éxito en los programas de restauración (SEMARNAT, 2011).

Diversidad genética

La diversidad genética es uno de los atributos más importantes de cualquier población. Es la cantidad de variación de alelos y genotipos que contiene una población o especie. Los ecosistemas están en constante cambio y la diversidad genética es necesaria para que las poblaciones evolucionen continuamente y se adapten a nuevas situaciones, una baja diversidad genética suele conducir a un

aumento de los niveles de endogamia, lo que puede reducir la aptitud de los individuos y las poblaciones (Freeland, 2005).

Estimaciones de la diversidad genética

Una de las medidas más simples de la diversidad genética es la **diversidad alélica**, a menudo llamada A , la cual es el número promedio de alelos por locus. Este método es muy sensible al tamaño de la muestra, lo que implica que el número de alelos identificados dependerá en parte del número de individuos examinados.

Otra medida de la diversidad genética es la **proporción de loci polimórficos** (designada como P). Esta puede ser de utilidad en estudios basados en loci relativamente invariables.

Una tercera medida, influenciada por el número de individuos muestreados es la **heterocigosidad observada** (H_o), la cual es obtenida dividiendo el número de heterocigotos en un locus particular entre el número total de individuos muestreados.

La **diversidad genética h** (Nei, 1987) es una medida alternativa utilizada como complemento de las anteriores. Su ventaja es una menor sensibilidad a los efectos del muestreo. Esta medida se calcula:

$$h = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$$

donde x_i es la frecuencia del alelo i , y m es el número de alelos que han sido encontrados en ese locus. Para un cierto locus, h representa la probabilidad de que dos alelos aleatoriamente escogidos de la población sean diferentes entre sí. En una población que se aparee aleatoriamente, h equivale a la heterocigosidad esperada (H_E), y representa la frecuencia de heterocigotos que se esperaría si una población está en equilibrio Hardy-Weinberg, por esta razón, a menudo se presenta como H_E .

Diversidad genética (h) para datos haploides

Las estimaciones de la diversidad genética basadas en datos mitocondriales suelen utilizar el parámetro h como medida de diversidad de haplotipos. En este contexto, h describe el número y las frecuencias de diferentes haplotipos mitocondriales y es esencialmente el equivalente de heterocigosidad para los loci haploides. Sin embargo, la diversidad de haplotipos de los genomas que evolucionan con relativa rapidez, como el ADNmt de los animales, a menudo se acerca a 1.0 dentro de una población si una alta proporción de individuos tiene haplotipos únicos. Por lo tanto, puede ser útil considerar el número de diferencias de nucleótidos entre dos secuencias cualesquiera, calculando la diversidad de nucleótidos (π , Nei, 1987), que cuantifica la divergencia media entre secuencias.

Marcadores moleculares mitocondriales

Los marcadores moleculares permiten, entre otras cosas, cuantificar la diversidad genética, rastrear movimientos de individuos, medir la endogamia, identificar restos de individuos, caracterizar nuevas especies y trazar patrones históricos de dispersión. Dichos marcadores se clasifican principalmente en dos tipos: marcadores mitocondriales y nucleares.

Las mitocondrias de los animales contienen dos genes de ARN ribosomal (ARNr), el ADNr 12S y el ADNr 16S. El ADNr 12S está muy conservado y se ha utilizado para estudiar la diversidad genética de niveles categóricos superiores, como en los phyla, mientras que el ADNr 16S se utiliza a menudo para estudios a niveles categóricos medios, como en familias o géneros (Gerber *et al.*, 2001).

El ADN mitocondrial contiene una región no codificante denominada región de control (CR, bucle D o D-loop) debido a su función en la replicación y transcripción del ADNmt. El segmento del bucle D presenta un nivel de variación comparativamente más alto que las secuencias codificantes de proteínas, debido a las reducidas funciones y a la poca presión de selección. La longitud del bucle D es

de aproximadamente 1kb y se puede amplificar fácilmente por PCR (Arif y Khan, 2009).

2.9 Estudios genéticos con *T. manatus manatus*

García-Rodríguez *et al.* (1998) compararon secuencias de la región control del ADNmt procedentes de 86 individuos de *T. manatus* de Florida, Puerto Rico, República Dominicana, México, Colombia, Venezuela, Guyana y Brasil. Encontraron tres linajes de ADNmt distintivos: 1) de Florida y las Antillas; 2) del Golfo de México a los ríos caribeños de América del Sur; y 3) la costa atlántica del noreste de Sudamérica. También demostraron que el linaje de México presenta más variabilidad genética que el de Florida, pero menos que los de América del Sur, lo que sugiere que se está incrementando la posibilidad de pérdida de diversidad genética en las poblaciones de México.

Morales-Vela y Medrano-González (1999), analizaron la variación genética del ADNmt de 12 individuos de *T. manatus* en el sureste de México, procedentes de la laguna de Catazajá, Chiapas y la bahía de Chetumal, Quintana Roo. Encontraron una diferenciación entre ambas localidades. También determinaron que en México coexisten dos clados característicos de Centroamérica, así como de las Antillas Mayores y Florida, y que, aunque en México la variación genética no parece diezmada, sí presenta evidencias de una reducción poblacional drástica reciente y fragmentación con consiguiente interrupción del flujo génico.

Vianna *et al.* (2006) secuenciaron la región control del ADNmt de 330 individuos de las tres especies de manatíes para comparar sus patrones filogeográficos. En *T. manatus* observaron una estructura poblacional marcada con la identificación de tres haplotipos mostrando una distribución espacial. Observaron que cada país contiene un haplotipo característico. También coinciden en que las poblaciones de México son homogéneas.

Robles-Saavedra *et al.* (2009) examinaron la variación genética en la región control del ADNmt de 33 manatíes *T. manatus* de Quintana Roo, Yucatán, Tabasco,

Chiapas, Veracruz y Florida. Los resultados mostraron que los manatíes del Golfo de México fueron genéticamente más cercanos a los de Venezuela y Colombia, mientras que los de Yucatán y Quintana Roo aparecieron como una mezcla de los manatíes de la costa continental de América del Sur al Golfo de México con los de las Antillas y Florida.

Hunter *et al.* (2010) realizaron una investigación de la diversidad genética, parentesco y estructura poblacional de 118 manatíes de Belice mediante ADNmt y microsatélites. Detectaron un bajo grado de diversidad genética ($H_E=0.455$; $N_A=3.4$), lo que se explicaría por el pequeño tamaño de la población y su explotación por caza durante un largo tiempo. Reportaron tres haplotipos y una diferenciación genética significativa entre poblaciones de dos regiones, así como una fuerte discrepancia en las proporciones de los haplotipos, lo que indicaba una mezcla restringida entre las dos regiones, por lo que sugieren que existe una posible barrera al flujo génico y aislamiento por distancia.

Nourrison *et al.* (2011) utilizaron microsatélites para determinar la estructura genética de las poblaciones de manatíes en México. Analizaron 98 muestras con las que registran la presencia de dos poblaciones en México: la del Golfo, que es la más grande, y la del Caribe, con una zona de mezcla de ambas en la bahía de la Ascensión, ubicada al norte de la bahía de Chetumal. Reportan poca variabilidad genética para las dos, siendo menor en la población del Golfo de México, lo que explican como una posible consecuencia de un efecto fundador y cuello de botella. Sugieren que la mayor diversidad a lo largo de la costa del Caribe es debido a la presencia de manatíes provenientes del Golfo de México y de Belice.

Gómez-Carrasco (2013) determinó la diversidad genética existente entre las poblaciones de manatíes de Tabasco, mediante el análisis de la región control del ADNmt (D-Loop) de 29 muestras. Reportó que las poblaciones de manatíes de Tabasco presentan una diversidad genética mayor a la que han reportado otros estudios.

Hernández-Martínez *et al.* (2013) estudiaron la composición de haplotipos de ADNmt de *T. manatus* en el archipiélago cubano. Analizaron 13 individuos, utilizando un fragmento de la región control que les permitió identificar dos haplotipos, uno de ellos presente en la Florida, México, Puerto Rico y República Dominicana, y el otro endémico de Belice. Encontraron que en Cuba la diversidad genética del ADNmt puede ser baja, similar a lo encontrado en otras regiones de la distribución, y que los territorios de Belice y Cuba han intercambiado individuos en el presente o en un pasado relativamente reciente.

Gómez-Carrasco *et al.* (2018) estudiaron la estructura genética de poblaciones de manatíes de Veracruz, Tabasco, Campeche y Chiapas, y compararon el estado genético de una población sin salida al mar con individuos de localidades sin barreras al desplazamiento y reproducción. Reportaron una diversidad genética ligeramente menor en la población sin salida al mar, lo que podría deberse al aislamiento. También detectaron un efecto de cuello de botella en ambos grupos, sugiriendo que en la población sin salida al mar fue resultado de los individuos fundadores que fueron introducidos desde la población sin barreras.

3. Justificación

El manatí es una especie de gran importancia en los ecosistemas acuáticos, son grandes transformadores de biomasa vegetal en nutrientes disponibles para otros componentes del ecosistema, ayudando también al mantenimiento de un balance poblacional en la flora acuática, además de considerarse una especie bandera, ya que fomentar su conservación también contribuye a la protección del resto de especies con las que comparte hábitat (Morales-López *et al.*, 2012; Gómez-Carrasco *et al.*, 2016).

La fragmentación de sus poblaciones por la contaminación y destrucción de sus hábitats ocasiona una restricción importante en su distribución espacial y, por lo tanto, un aislamiento o semi aislamiento de las poblaciones, lo que a su vez conlleva a un flujo génico restringido, con una consecuente pérdida de la variabilidad

genética que compromete su sobrevivencia a largo plazo ante eventos ambientales estocásticos o enfermedades (Morales-Vela y Medrano-González, 1999; Nourisson *et al.*, 2011).

Pocas especies silvestres son objeto de un seguimiento regular que garantice el mantenimiento de su diversidad genética a largo plazo, ahí radica la importancia de continuar con la labor de realizar periódicamente estudios que permitan estandarizar herramientas y métodos fácilmente aplicables. Los resultados de este tipo de estudios aportan información valiosa que debe considerarse al momento de tomar decisiones respecto a las medidas a aplicar para preservar la diversidad genética, como propuestas de protocolos de manejo y conservación más efectivos (Gómez-Carrasco *et al.*, 2016).

Esta investigación en particular aportará un panorama general acerca del estado genético actual de la población del estado de Tabasco, que ha sido afectada por diversos cambios en su hábitat, como el caso del sistema lagunar Carmen-Pajonal-Machona, en el que se registró una disminución de los acahuales y humedales de 14 238 hectáreas en conjunto durante 2000-2015 (Ramos-Reyes *et al.*, 2021), la alteración de los flujos de agua del humedal Chaschoc-Sejá en el municipio de Emiliano Zapata, como consecuencia del establecimiento de monocultivos de palma de aceite (Gordillo-Chávez *et al.*, 2015) y la construcción de diques en la laguna de Catazajá en Chiapas, que restringen el desplazamiento de los animales (Rodas-Trejo *et al.*, 2008). Estos resultados establecerán un punto de comparación para futuros estudios que permitan contrastar los valores de diversidad y evaluar la influencia de diferentes factores que pudieran alterar la dinámica de esta población a mediano y largo plazo.

4. Objetivos

Objetivo general

Estimar la diversidad haplotípica de las poblaciones de manatíes de algunos sistemas fluvio-lagunares del estado de Tabasco.

Objetivos específicos

- Definir los haplotipos predominantes en poblaciones de manatíes del estado de Tabasco.
- Determinar el haplotipo más común en poblaciones de manatíes de Tabasco.

5. Área de estudio

El estado de Tabasco se caracteriza por la presencia de una gran variedad de cuerpos acuáticos tales como lagunas, arroyos y canales asociados a un río principal, formando una variedad de sistemas fluviolagunares; algunos cuerpos de agua se encuentran cubiertos parcial o temporalmente por diversos tipos de vegetación. Este estado alberga la red hidrológica más compleja del país, ya que cuenta con dos regiones hidrológicas; Grijalva-Usumacinta (RH30) y Coatzacoalcos (RH29). La RH30 comprende el 75% del territorio Tabasqueño, se ubica en el centro y este del estado y comprende tres cuencas: Río Usumacinta, Laguna de Términos y Río Grijalva-Usumacinta, mientras que la RH29 abarca el 25% del territorio Tabasqueño, al occidente del estado y los principales cuerpos hidrológicos son: Lagunas del Carmen y Machona, Río Santa Ana y Río Tonalá (SEIACC, 2019).

Además de ser el estado donde se unen dos de los ríos más importantes de México para su desembocadura al mar, el Grijalva y el Usumacinta, también es uno de los estados con las mayores precipitaciones pluviales. La gran cantidad de escurrimientos superficiales, así como el escaso relieve de la llanura costera, ha dado lugar a la formación de un drenaje anastomosado, dendrítico y lagunar, por lo

que se ha desarrollado un gran número de cuerpos de agua perennes e intermitentes de diferentes tamaños, pantanos y llanuras de inundación, que se interconectan a través de canales; en temporadas de lluvia el agua fluye alimentando los canales y a estos cuerpos de agua, elevando sus niveles considerablemente. En temporadas de secas (marzo a junio) estos canales reducen sus dimensiones, dejando sin conexión con el río principal a algunos de estos cuerpos de agua o secándose completamente (West, 1987, Jiménez-Domínguez, 2009a, SEIACC, 2019).

La cobertura vegetal, que representa la disponibilidad de alimento para el manatí, es variada a lo largo del área de estudio; la vegetación está representada mayormente por pastos como *Paspalum repens*, *Luziola subintegra*, sauce (*Salix humboldtiana*), macuilí (*Tabebuia rosea*), tinto (*Haematoxylum campechianum*), jobo (*Spondias mombin*), mangle rojo (*Rizophora mangle*), jacinto o lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), lechuga acuática (*Pistia stratiotes*), popal (*Thalia geniculata*), tular (*Typha dominguensis*) y vegetación sumergida como el sargaso (*Ceratophyllum demersum*), *Cabomba palaeformis* y cintilla (*Vallisneria americana*), entre otras (Jiménez-Domínguez, 2009).

El área de estudio incluye cuerpos de agua de los municipios de Centro, Centla, Jonuta, Macuspana, Emiliano Zapata y Balancán, pertenecientes al noreste de las subcuencas Grijalva-Villahermosa y Río Usumacinta.

Laguna de las ilusiones

La laguna de las Ilusiones es una laguna de origen natural localizada en la zona centro-norte de la ciudad de Villahermosa, Tabasco (Figura 3). Fue decretada Área Natural Protegida Estatal, con carácter de Reserva Ecológica Estatal en 1995 (SEMARNAT, 2002). Está situada en la cuenca baja del Río Grijalva, anteriormente estaba conectada con el Río Mezcalapa a través del arroyo El Espejo; sin embargo, el canal se cerró debido al crecimiento urbano. Actualmente se alimenta principalmente del alcantarillado pluvial y de descargas naturales por medio de las

abundantes precipitaciones pluviales. Es un sistema cerrado cuyo flujo de agua es hacia el Río Carrizal, y es controlado a través de una compuerta ubicada en la parte norte de la laguna. Las descargas domiciliarias representan su mayor fuente de contaminación, provocando la aceleración de la eutrofización y la proliferación de vegetación acuática en altas densidades (Padrón, 2004).

Sistema Lagunar Catazajá

El Área Natural Protegida Estatal Sistema Lagunar Catazajá se encuentra en el noreste de Chiapas (Figura 4) su principal fuente de abastecimiento es el río Usumacinta. Es una extensa llanura inundada que abarca aproximadamente 60,000 ha. Contiene 112 lagunas estacionales y 10 permanentes, así como varios arroyos y pequeños ríos que atraviesan sus llanuras. La laguna más extensa es la Laguna Grande de Catazajá, donde se encuentra un grupo residente de manatíes en condición de semi aislamiento debido a que entre 1993 y 1994, con la finalidad de aumentar la producción pesquera, se construyeron varios diques en los canales que alimentan y drenan esta laguna (SERNYP, 1995). Además, el sistema de humedales se ha visto fuertemente transformado por actividades relacionadas con la ganadería y exploración y extracción de petróleo (Rodas-Trejo *et al.*, 2008).

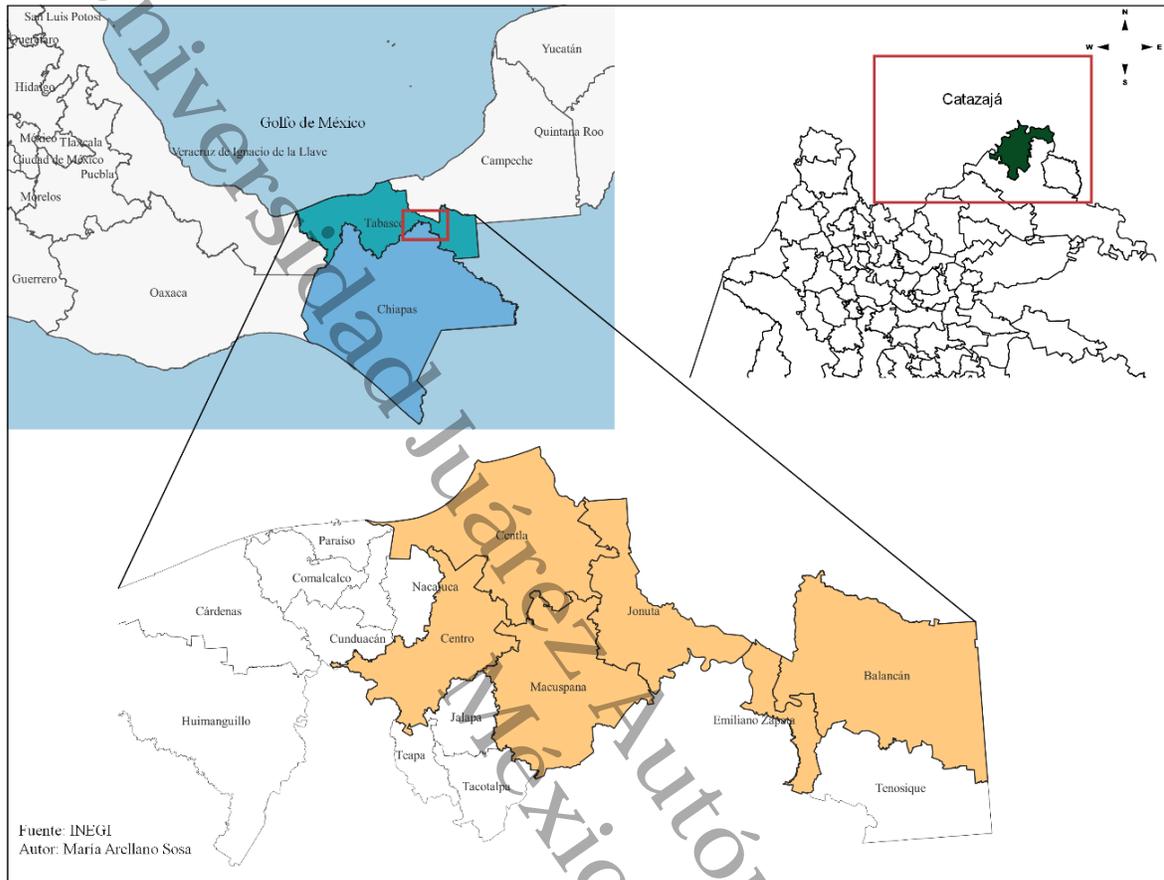


Figura 2. Mapa de las localidades muestreadas.

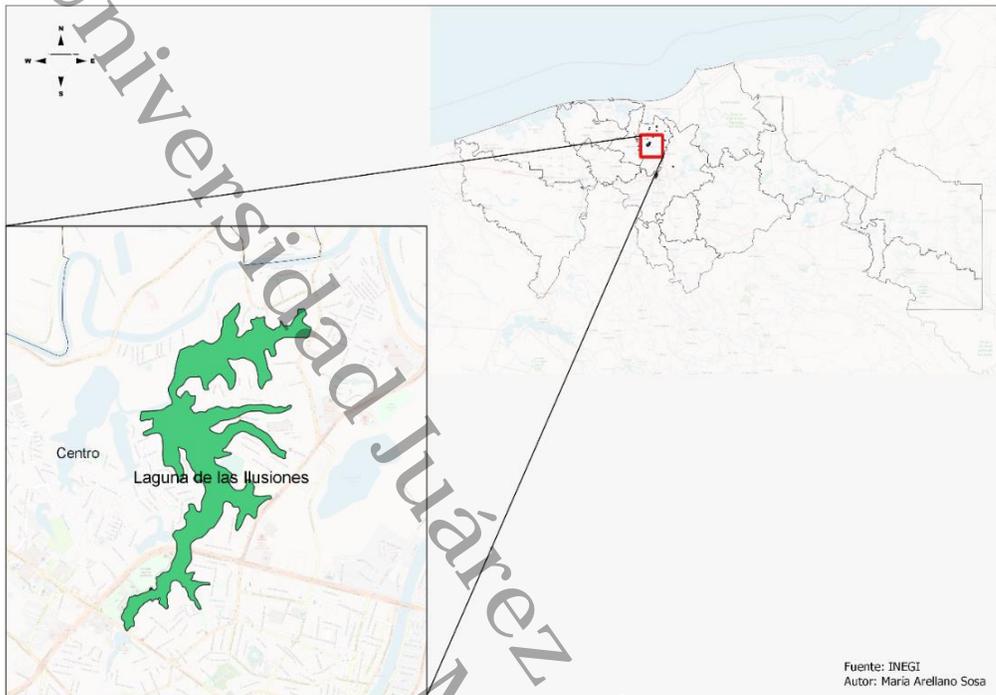


Figura 3. Reserva Ecológica Laguna de las Ilusiones, localizada en el municipio de Centro, Tabasco.

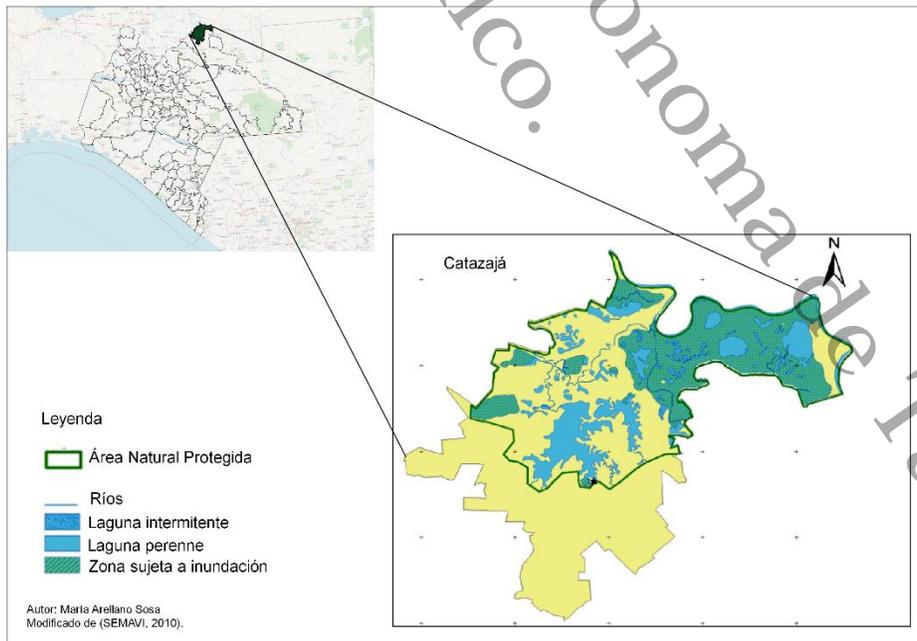


Figura 4. Área Natural Protegida Sistema Lagunar Catazajá, municipio de Catazajá, Chiapas.

6. Metodología

6.1 Material biológico

Las muestras para este estudio se derivaron de proyectos dirigidos por el Dr. León David Olivera Gómez en diferentes años entre 2009 y 2018, que implicaron la captura momentánea de individuos para colocarles radio marcas y seguir sus movimientos, así como de individuos hallados muertos. Dichas muestras fueron resguardadas en el Laboratorio de Genómica de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, utilizando un total de 34 para el análisis del presente trabajo.

Los individuos se capturaron cercándolos desde una lancha con una red de seda de cuatro pulgadas de luz de malla, siete metros de caída y 200m de largo. Cuando el animal tiraba de la red se alzaban los plomos y se embolsaba al manatí, colocándolo junto a la lancha para que se tranquilizara. El animal era llevado al interior de la lancha sobre una colchoneta de hule espuma. Para la obtención de las muestras y manejo del animal, éste se llevó a una orilla cercana y se colocó sobre una colchoneta, donde se mantenía humedecido. Se obtuvieron cortes de un área de aproximadamente 1cm^3 de piel en el extremo distal de la aleta caudal. A los animales que fueron capturados de esta manera se les implantó un chip identificador subcutáneo (marca AVID) entre el omóplato y el cráneo. Las muestras de piel descamada se colocaron directamente en tubos con solución buffer para tejidos (Gómez-Carrasco, 2013).

Los animales muertos de los que se obtuvieron las muestras fueron encontrados en cuerpos de agua de los municipios de Macuspana y Centla, durante la contingencia del 2018 en Tabasco (permiso de colecta SGPA/DGVS006420/18) recolectados por el comité de varamientos interinstitucional que gestionó la atención de dicha contingencia, una vez que la PROFEPA realizó las inspecciones pertinentes y abaló la colecta de tejidos. Se recolectaron fragmentos de piel de la cola de cadáveres frescos o moderadamente descompuestos *in situ* o en las instalaciones de la central

Tres Brazos de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla donde se realizaron algunas necropsias (D. Jiménez, comunicación personal, 11 de mayo de 2022). Las muestras se colocaron en tubos con solución buffer para tejido y hueso que almacenan ADN. Se registraron datos de sexo y procedencia. Las muestras se colocaron en neveras con hielo para trasladarlas al Laboratorio de Genómica de la División Académica de Ciencias Biológicas, y allí se cambiaron a tubos Eppendorf de 1.5 µl de capacidad, se etiquetaron y guardaron en un ultracongelador a -80°C, para posterior extracción de ADN.

Los procedimientos para la obtención de las muestras se realizaron de acuerdo al Código Institucional de Ética para la Investigación de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT, 2019) y bajo la normativa de la NOM-059 (SEMARNAT, 2010). Las muestras se obtuvieron con los permisos de colecta científica SGPA/DGVS/01754/09; SGPA/DGVS/02901/11; SGPA/DGVS/00646/16 SGPA/DGVS/006420/18.

Las muestras se obtuvieron en diversos municipios del estado de Tabasco (n=28) y, muestras de Chiapas (n=6). Las muestras de Chiapas fueron incluidas en este estudio debido a que el área considerada forma parte de la cuenca Usumacinta, su principal fuente de abastecimiento es el río Usumacinta y tiene conexiones con otros cuerpos lagunares cercanos a Tabasco; cuenta con cuerpos de agua temporales y permanentes que forman parte de los Pantanos de Centla, que se encuentran aislados durante la temporada de secas (Gobierno del Estado de Chiapas, 2012).

Se realizaron tres análisis independientes agrupando las muestras de acuerdo a conocimientos previos del estado de conectividad de las poblaciones en Tabasco, teniendo en cuenta que la población de la Laguna de las Ilusiones se considera aislada, estas muestras (n=9) se separaron del resto. El segundo análisis se realizó con las muestras restantes de los cuerpos de agua de Tabasco (n=19) que no tienen barreras de desplazamiento permanentes para los manatíes, por lo que se considera una población abierta (PA) (Gómez-Carrasco *et al.*, 2018). El tercer

análisis se realizó con las muestras de Chiapas, procedentes del Sistema Lagunar Catazajá, en el municipio de Catazajá (n=6).

6.2 Extracción y amplificación de ADN.

El ADN genómico se aisló con el Kit comercial Dneasy® Blood & Tissue de Qiagen de acuerdo al protocolo indicado por el fabricante (Valencia, CA, USA), utilizando 0.025mg de tejido por cada muestra, enjuagado previamente con agua destilada.

Las amplificaciones de ADN se realizaron utilizando un total de 5 pares de primers, descritos antes por Kocher *et al.* (1989), García-Rodríguez *et al.* (1998) y Zinner *et al.* (2009) de acuerdo a regiones altamente conservadas (Tabla 1). Se utilizó un termociclador T100™ de BIO-RAD, con las siguientes condiciones de amplificación: 94°C por 5 minutos, 35 ciclos de 42°C por 45 segundos, 72°C por un minuto, 94°C por 30 segundos y una extensión final de 72°C por 10 minutos. Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo utilizando Supermix Platinum Blue (Invitrogen) con las siguientes concentraciones: 1 µM por primer, 0.33 U de Supermix Platinum Blue y 20 ng de ADN, con un volumen final de 22 µl por muestra. El producto de PCR se visualizó a través de electroforesis en geles de agarosa al 1.5% teñidos con Bromuro de Etidio (Westermeyer, 2005), se empleó el equipo documentador Molecular Imager Gel Doc™ (BIO-RAD) (Figura 4).

Tabla 1. Primers utilizados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Primer	Secuencia (5' – 3')	Temperatura óptima (°C)	Región
Cytb1F	FGATACGAAAAACCATCGCTGT	58	Citocromo B
Cytb1R	AGTAGGGATGGAAGGTGATTT		
Cytb1F	GATACGAAAAACCATCGCTGT	56	Citocromo B
Cytb2R	GCTCCATTTCTGGTTTACAAG		
L14841	AAAAGCTTCCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA	65	Citocromo B
H15149	AAACTGCAGCCCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA		
L1091	AAAAGCTTCAAAGCTGGGATTAGATACCCCACTAT	64	12S ARNr
H1478	TGACTGCAGAGGGTGACGGGCGGTGTGT		

L15926	TCAAAGCTTACACCAGTCTTGTAACCC	61	Región
H00651	TAACTGCAGAAGGCTAGGACCAAACCT		control

6.3 Análisis bioinformático de datos.

La diversidad haplotípica (h) se estimó utilizando el software de análisis genético GenAlEx 6.502 (Peakall y Smouse, 2012), para lo cual se elaboró una base de datos a partir de las fotografías obtenidas por la electroforesis en gel de agarosa, de acuerdo al patrón de bandas de los fragmentos amplificados por PCR.

Los valores de referencia para determinar la diversidad de haplotipos fueron los reportados por Grant y Bowen, (1998) en la que sugiere valores de 0 a 1.0, siendo 0 un valor bajo y los cercanos a 1.0 valores altos.

Para los análisis se consideraron tres grupos, el primero integrado por las muestras de la Laguna de las Ilusiones (LI), el segundo por las muestras de los cuerpos de agua de los municipios de Centla, Jonuta, Macuspana, Emiliano Zapata y Balancán, identificado como (PA), y el tercero por las muestras de Chiapas (CH).

Se realizó un Análisis de Coordenadas Principales mediante matriz de covarianza con estandarización de datos (PCoA) utilizando el software GenAlEx.

7. Resultados

De las 34 muestras analizadas, 29 amplificaron para al menos un par de primers.

El análisis de la Laguna de las Ilusiones mostró que el haplotipo con mayor frecuencia (0.4) se encontró en el locus L14841-H15149 del Citocromo B del ADNmt. La diversidad haplotípica poblacional estimada fue de $h=0.757$. La región mitocondrial con mayor diversidad haplotípica fue la delimitada por CYTB1F-CYTB2R, del gen del Citocromo B.

El segundo análisis, de las muestras de Tabasco excluyendo la Laguna de las Ilusiones, mostró una diversidad haplotípica de $h=0.698$. En este grupo tres

muestras no amplificaron para ningún primer, posiblemente debido a la degradación del tejido, dejando el número de muestras totales en 16.

El haplotipo con mayor frecuencia (0.8) se encontró en el locus L15926-H00651 de la región control del ADNmt, mientras que el locus con mayor diversidad haplotípica fue CYTB1F-CYTB2R.

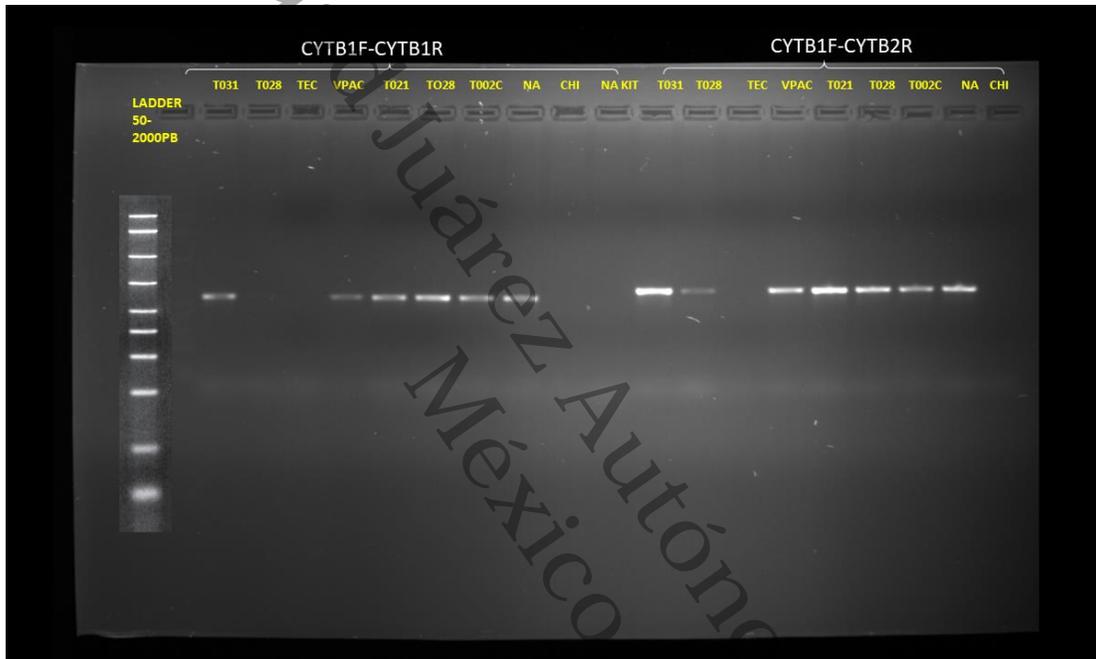


Figura 5. Amplificaciones obtenidas a partir de los primers CYTB1F-CYTB1R y CYTB1F-CYTB2R de la región Citocromo B del ADNmt con muestras de piel de manatíes de Tabasco.

Las muestras de Chiapas, por su parte, presentaron una diversidad haplotípica de $h= 0.535$. En estas muestras el locus con mayor diversidad fue CYTB1F-CYTB2R, mientras que los haplotipos con mayor frecuencia (0.6) se encontraron en los locus L1091-H1478 y CYTB1F-CYTB1R. En este análisis dos muestras no amplificaron para ningún primer, posiblemente debido a la integridad del tejido, y ninguna muestra amplificó para el primer L15926-H00651.

El Análisis de Coordenadas Principales mediante matriz de covarianza con estandarización de datos (PCoA) muestra a la mayoría de los individuos separados, sin formar conglomerados bien definidos, las agrupaciones indicarían mayor similitud entre haplotipos o muestras compartiendo los mismos haplotipos (Figura 5).

Tabla 2. Valores promedio y desviación estándar total y por grupo. Diversidad haplotípica (h). Número de alelos/haplotipos (N_a). Número efectivo de alelos/haplotipos (N_e). El valor de h se acercará a 1.0 (diversidad alta) dentro de una población si una alta proporción de individuos tiene haplotipos únicos, entre más cercano a 0 es menor la diversidad de haplotipos en la población. Laguna de las Ilusiones (LI), Población abierta (PA), Chiapas (CH).

Valor	LI	PA	CH
h	0.757 ± 0.039	0.698 ± 0.104	0.535 ± 0.073
N_a	5	6	2
N_e	4.653 ± 0.846	5.188 ± 1.578	2.4 ± 0.535

Tabla 3. Tamaño de la muestra (n), número de alelos/haplotipos (N_a), número de alelos/haplotipos efectivos (N_e), índice de información (I), diversidad haplotípica (h) y diversidad insesgada por locus (u_h).

Grupo	Locus	n	N_a	N_e	I	h	u_h
LI	L1091-H1478	6	4	3.600	1.330	0.722	0.867
	CYTB1F-CYTB1R	8	7	6.400	1.906	0.844	0.964
	CYTB1F-CYTB2R	7	7	7.000	1.946	0.857	1.000
	L14841-H15149	7	4	3.267	1.277	0.694	0.810
	L15926-H00651	3	3	3.000	1.099	0.667	1.000
PA	L1091-H1478	9	4	3.000	1.215	0.667	0.750
	CYTB1F-CYTB1R	15	10	7.759	2.176	0.871	0.933
	CYTB1F-CYTB2R	13	11	9.941	2.352	0.899	0.974

Tabla 4. Valores de diversidad haplotípica (h) obtenida en estudios previos con poblaciones de *T. manatus* en México.

Población	n	h	Autor/Año
Chiapas, Quintana Roo	6	0.00	García <i>et al.</i> , 1998
Catazajá, Chiapas y Chetumal, Quintana Roo	12	0.58	Morales-Vela y Medrano-González, 1999
México	14	0.6154	Vianna <i>et al.</i> , 2006
Bahía de Chetumal, Quintana Roo y Yucatán	18	0.830	Robles-Saavedra
Laguna San Juan, Chiapas, Tabasco y Veracruz	13	0.423	<i>et al.</i> , 2009

8. Discusión

El análisis realizado mostró una diversidad haplotípica moderada para las muestras de la población abierta de Tabasco (PA), sin embargo, contrario a lo esperado, el valor más alto de diversidad haplotípica se obtuvo con las muestras de la Laguna de las Ilusiones (Tabla 2). Una mayor diversidad de haplotipos, como la que se encontró en este estudio (en comparación con otras poblaciones de *T. manatus*), se ha relacionado con el crecimiento de la población después de un periodo de bajo tamaño de población efectiva o cuello de botella, seguido de la acumulación de mutaciones (Grant y Bowen, 1998; Mendez-Harclerode *et al.*, 2007).

Por otro lado, la falta de agrupación de los puntos en el análisis PCoA (Figura 5), sugiere que los haplotipos están bien distribuidos tanto entre la población abierta como dentro de la población aislada de la Laguna de las Ilusiones, incluso se puede considerar que hay individuos de la población aislada que están genéticamente relacionados con los de la población abierta de las diferentes localidades. Además,

la diversidad haplotípica obtenida para la Laguna de las Ilusiones fue mayor a la que se esperaba, tomando en cuenta que se trata de una población aislada. Esto permite apoyar la hipótesis de Gómez-Carrasco (2013), que propone que la población fundadora contaba con un número favorable de hembras que establecieron un pool genético mitocondrial diverso. Esta diversidad se ha mantenido a lo largo de las generaciones posiblemente debido al apareamiento aleatorio y a que la población no ha sufrido una pérdida significativa de individuos en un periodo corto de tiempo, lo que ha evitado que se vea afectada por un cuello de botella.

La mayoría de los estudios de diversidad genética de manatíes se han hecho con microsatélites, de ADN nuclear, sin embargo, existen trabajos como el de Morales-Vela y Medrano-González (1999) en el que contrastan la variación genética nuclear y mitocondrial; el grado de diferenciación poblacional de manatíes de Catazajá, Chiapas y Chetumal, Quintana Roo que reportan con el uso de ADNm ($H_t = 0.58$) es mayor al que se obtuvo con el análisis del ADN nuclear ($H_t = 0.42$). Los autores consideran que estos valores son comunes en comparación a otros mamíferos, aunque también pueden estar influenciados por su reducido tamaño de muestra ($n=12$). Se ha sugerido que existen unidades geográficas, con poca o nula relación hidrológica, que corresponden a unidades poblacionales naturales dentro de las cuales existe un flujo génico ligeramente mayor en machos, relacionado con hábitos filopátricos para la reproducción (met).

Valores de diversidad haplotípica menores a los obtenidos en este estudio también han sido reportados en otras poblaciones de manatíes a lo largo del rango de distribución de la subespecie. En Belice se obtuvieron valores bajos de diversidad haplotípica ($h=0.534 \pm 0.025$) y diversidad nucleotídica ($\pi=0.031 \pm 0.015$), en comparación con valores característicos de poblaciones pequeñas, aisladas y recuperadas de un evento de cuello de botella o caza durante mucho tiempo (Hunter *et al.*, 2010). Por su parte, estudios de la diversidad genética a nivel nuclear reportados por Nourisson *et al.* (2011) para la población del Golfo de México ($H_E =$

0.41) coinciden con los obtenidos por Carrasco *et al.* (2018) ($H_E=0.44$), marcando una baja diversidad, ambos utilizaron microsátélites. Esta baja diversidad puede ser resultado de un anterior evento de cuello de botella resultado de la caza común en esta región hace décadas (Lefebvre *et al.*, 2001). En general se tiene registro de que comparando los dos grandes grupos de manatíes de México, los del Golfo y los del Caribe, el primer grupo tiende a reportar la diversidad haplotípica más baja ($h=0.423$ para el Golfo y $h=0.830$ para el Caribe), ya que esta población está relativamente más aislada, a diferencia de la del Caribe occidental, que es una zona de flujo génico entre los dos principales linajes de estos animales (Robles-Saavedra *et al.*, 2009).

De acuerdo con lo mostrado en otros estudios, esta subespecie parece formar una metapoblación subdividida con flujo génico dentro de sus unidades, pero aisladas entre ellas por distancia (Morales-Vela y Medrano-González, 1999). En general, aunque no hay barreras geográficas para la dispersión de los individuos dentro de la región del sur del Golfo de México, se ha sugerido que los manatíes de la población del Golfo de México presentan una tendencia a quedarse en los sistemas fluviolagunares y no en aguas costeras, probablemente como consecuencia de otros factores, como son las variaciones de temperatura, la presencia de vegetación, niveles de agua y amenazas puntuales en los hábitats que podrían hacer que los individuos se concentraran en áreas definidas dentro de las cuencas fluviales (Puc-Carrasco *et al.*, 2017). El desplazamiento que se ha observado en los manatíes responde a cambios estacionales, ya que se registra que los manatíes se mueven localmente de los ríos hacia las lagunas adyacentes y hacia zonas inundadas, influenciados por cambios en el nivel del agua, ya que, al presentarse un descenso, los manatíes se mueven hacia diferentes sitios, como arroyos, sitios de confluencia o ambientes con mayor profundidad para refugiarse (Colmenero, 1984; Colmenero, 1985; Jiménez-Domínguez y Olivera-Gómez, 2014).

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, el valor de diversidad haplotípica es en general alta en comparación con los estudios previamente

realizados para las mismas poblaciones, y moderada según los índices de diversidad que presentan otras especies de mamíferos como el dugongo (*Dugong dugon*) también del orden Sirenia ($h=0.85$), que en el subcontinente indio presenta una distribución fragmentada con escasos avistamientos en vivo (Srinivas *et al.*, 2020) y el manatí del Amazonas (*Trichechus inunguis*; $h=0.909$) ambas especies clasificadas como Vulnerables por la IUCN (Cantanhede *et al.*, 2005). Tabasco es un estado que se alberga la que se cree que representa la mayor población de manatíes en México, asociados a las cuencas de los ríos Grijalva y Usumacinta, sin embargo, en los últimos años ha habido un aumento gradual en la incidencia de las actividades antrópicas en esta región, que representan o desencadenan amenazas importantes para la subespecie (Guzmán-Nieto, 2009, Jiménez-Domínguez y Olivera-Gómez, 2014; Lázaro-Vázquez, 2017).

La diversidad haplotípica alta se interpreta como un tamaño poblacional efectivo considerable, ya que la molécula de ADNmt es sensible a fenómenos como cuellos de botella y en poblaciones de tamaño efectivo pequeño la variabilidad suele ser muy baja, lo que sugiere que, de acuerdo a los resultados obtenidos de diversidad moderada, las poblaciones evaluadas permanecen con un tamaño efectivo viable, a pesar de su disminución en el pasado, lo que se traduce en una oportunidad de conservar la diversidad genética que asegure la sobrevivencia de las poblaciones ante los diversos cambios en el hábitat.

Por otro lado, la diversidad haplotípica de las muestras que se incluyeron de la población semi aislada de la Laguna Catazajá de Chiapas fue la más baja, casi similar a la reportada por Morales-Vela y Medrano-González (1999, $h=0.58$). Considerando que las muestras utilizadas en este estudio se obtuvieron en 2017-2018, aún no se puede asegurar que la población vaya en decline de acuerdo al tiempo establecido por la IUCN (IUCN, 2022; Marsh *et al.*, 2011), sin embargo, es importante vigilar su estado genético debido a las diversas amenazas que enfrenta, principalmente relacionadas con la alteración de su hábitat y las prácticas de pesca (Ortega-Argueta, 2001; Rodas-Trejo *et al.*, 2008).

La importancia de continuar haciendo este tipo de investigación radica en el monitoreo integral de la dinámica de estas poblaciones, complementando los registros de desplazamientos en poblaciones abiertas, y llevando un seguimiento de las poblaciones aisladas y semi aisladas para prevenir la pérdida de la variabilidad genética y asegurar la permanencia de las poblaciones.

9. Conclusiones

En este trabajo se concluye que existe una diversidad haplotípica moderada en las poblaciones estudiadas de Tabasco, lo que permite asumir que se encuentra en un buen estado genético y que hasta ahora no se ha visto afectada por los cambios en el hábitat mencionados anteriormente. Las condiciones fisiográficas e hidrológicas que ofrece el estado de Tabasco permiten el desplazamiento de los individuos, comprobando que a pesar de que esta subespecie tiende a mantenerse en el interior de los sistemas fluviolagunares en lugar de aguas costeras, se mantiene un buen flujo génico entre las unidades.

Aunque en los últimos años se han hecho cada vez más estudios acerca de esta subespecie en nuestro país, sigue siendo importante considerar la estandarización de un tamaño de muestra que permita obtener información más precisa del estado actual de las poblaciones. La población de manatíes de Tabasco es una de las más estudiadas, sin embargo, para hacer comparaciones, es necesario que los demás estados también fomenten el estudio de sus poblaciones de manatíes, como el caso particular del Sistema Lagunar Catazajá, en Chiapas, del que se han publicado pocos estudios, por lo que se sugiere monitorear el estado genético de esa población debido a su condición de semi aislamiento.

Con este estudio también se recalca la importancia de la atención a los varamientos, tanto como oportunidades para la toma de muestras que permitan seguir realizando este tipo de estudios como para el monitoreo de la conectividad de los cuerpos de

agua, puesto que se debe procurar el desplazamiento de los individuos, que a su vez fomenta el mantenimiento del flujo génico entre las distintas subpoblaciones.

En futuros estudios se recomienda la secuenciación de los haplotipos, para obtener datos de diversidad nucleotídica y comparar los haplotipos de las poblaciones de Tabasco con los de otros países.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

10. Referencias

- Acosta-Tafoya, C. (2014). *Asociación entre manatíes (Trichechus manatus manatus) en la población aislada de la Laguna de las Ilusiones, Tabasco, México*. Tesis de Licenciatura, División Académica de Ciencias Biológicas-Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Arif, I. A., & Khan, H. A. (2009). Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation*, 1(32), 9-17.
- Arriaga, W. S., & Contreras, W. (1994). *El Manatí (Trichechus manatus) en Tabasco*. Informe Técnico.
- Best, C. R. (1983). Apparent dry-season fasting in amazonian manatees. *Biotropica*, 15(1), 61-64.
- Bossart, G. D., Ewing, R. Y., Lowe, M., Sweat, M., Decker, S. J., & Jenson, A. B. (2002). Viral papillomatosis in Florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*). *Experimental Molecular Pathology*(72), 37-48.
- Buergelt, C. D., Bonde, R. K., Beck, C. A., & O'Shea, T. J. (1984). Pathologic findings in manatees in Florida. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185(11), 1331-1334.
- Cantanhede, A. M., Da Silva, V. M., Farias, I. P., Hrbek, T., Lazzarini, S. M., & Alves-Gomes, J. (2005). Phylogeography and population genetics of the endangered Amazonian manatee, *Trichechus inunguis* Natterer, 1883 (Mammalia, Sirenia). *Molecular Ecology*, 14(2), 401-413. doi:10.1111/j.1365-294X.2004.02413.x
- Castelblanco-Martínez, D. N., Pérez-Flores, J. S., Garcés-Cuartas, N., Padilla-Saldívar, J. A., Romero-Tenorio, A., Lara-Sánchez, L. E., & Niño-Torres, C. A. (2020). First documented case in 20 years of an Antillean manatee killed by a watercraft collision in the Mexican Caribbean. *Sirennews*(71), 16.
- Colmenero, L. C. (1984). Nuevos registros del manatí (*Trichechus manatus*) en el sureste de México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*(54), 243-254.
- Colmenero, L. C. (1985). Nuevos registros del manatí (*Trichechus manatus*) en el sureste de México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*(56), 589-602.

- Colmenero-Rolón, L. C. (1991). Propuesta de un plan de recuperación para la población del Manatí en México. *An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. de Méx., Ser. Zool*, 62(2), 203-218.
- Colmenero-Rolón, L. C. (2005). Manatí, *Trichechus manatus* Linnaeus, 1758. En G. Ceballos, & G. Oliva, *Los mamíferos silvestres de México* (págs. 492-493). México: CONABIO/ Fondo de Cultura Económica.
- Colmenero-Rolón, L. C., & Hoz-Zavala, M. E. (1986). Distribución de los manatíes, situación y su conservación en México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*, 56(3), 955-1020.
- Daniel-Rentería, I. C., Serrano, A., & Sánchez-Rojas, G. (2012). Distribution of the Antillean manatee (*Trichechus manatus manatus*) in the Alvarado Lagoon System (Veracruz, Mexico). *Ciencias Marinas*, 38(2), 459-465.
- Flores-Cascante, L. (2010). Aspectos biológicos de los sirénidos *Trichechus manatus* Linnaeus, 1758 en México. *Biocyt: Biología, Ciencia y Tecnología*, 3(1), 122-134.
- Frankham, R., & Ballou, J. D. (2002). *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press.
- García-Rodríguez, A. I., Bowen, B. W., Domning, D., Mignucci-Giannoni, A. A., Marmontel, M., Montoya-Ospina, R. A., & McGuire, P. M. (1998). Phylogeography of the West Indian manatee (*Trichechus manatus*): How many populations and how many taxa? *Molecular Ecology*, 7(9), 1137-1149.
- Gerber, A. S., Loggins, R., Kumar, S., & Dowling, T. E. (2001). Does nonneutral evolution shape observed patterns of DNA variation in animal mitochondrial genomes? *Annual Reviews of Genetics*(35), 539-566.
- Gobierno del Estado de Chiapas. (2012). *Plan de Gestión Integral de la Cuenca Laguna de Catazajá*. Instituto Estatal del Agua.
- Gobierno del Estado de Chiapas. (2019). *Informe final del proyecto Conservación del Manatí (Trichechus manatus) en los Humedales del Norte de Chiapas*. Secretaría de Medio Ambiente e Historia Natural.
- Gómez-Carrasco, G. (2013). *Determinación de la diversidad genética en las poblaciones de manatíes ('Trichechus manatus manatus') del estado de Tabasco*. Villahermosa, Tabasco: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Gómez-Carrasco, G., Leshner-Gordillo, J. M., Olivera-Gómez, L. D., Bonde, R. K., Arriaga-Weiss, S., Hernández-Martínez, R., & Delgado-Estrella, A. (2018). Genetic diversity and structure form Antillean manatee (*Trichechus manatus manatus*) in the

- Southern Gulf of México: Comparison between connected and isolated populations. *Tropical Conservation Science*(11).
- Gordillo-Chávez, E. J., Mata-Zayas, E., García-Morales, R., Morales-Garduza, M. A., Villanueva-García, C., & Valdez-Lea, J. D. (2015). Mastofauna del humedal Chaschoc-Sejá en Tabasco, México. *Therya*, 6, 535-544.
- Grant, W. S., & Bowen, B. W. (1998). Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Genetics*(6), 415-426.
- Guzmán-Nieto, J. E. (2009). *Modelo de indicadores para evaluar el desempeño ambiental del subproyecto de conservación y manejo del PREP del manatí en Tabasco*. Tesis de especialidad en gestión ambiental, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California.
- Hartman, D. S. (1979). Ecology and behavior of the manatee (*Trichechus manatus*) in Florida. *The American Society Mammalogist*, 153.
- Hernández-Martínez, D., Álvarez-Alemán, A., Bonde, R. K., Powell, J. A., & García-Machado, E. (2013). Diversidad haplotípica en el manatí *Trichechus manatus* en Cuba: Resultados preliminares.
- Hunter, M. E., Auil-Gómez, N. E., Tucker, K. P., Bonde, R. K., Powell, J., & McGuire, P. M. (2010). Low genetic variation and evidence of limited dispersal in the regionally important Belize manatee. *Animal Conservation*(13), 592-602.
- IUCN. (Eneero de 2022). *The IUCN Red List of Threatened Species*. Obtenido de International Union for Conservation of Nature and Natural Resources: <https://www.iucnredlist.org>
- Jiménez-Domínguez, D. (2009). *Uso del hábitat por el manatí Antillano (Trichechus manatus manatus) en sistemas fluviolagunares del río Usumacinta, México*. Tesis de Maestría, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.
- Jiménez-Domínguez, D. (2009a). Los humedales tabasqueños, ¿un hábitat ideal para el manatí? *Diálogos del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Tabasco*, 20-25.
- Jiménez-Domínguez, D., & Olivera-Gómez, L. D. (2014). Características del hábitat del Manatí antillano (*Trichechus manatus manatus*) en sistemas fluviolagunares del sur del Golfo de México. *THERYA*, 5(2), 601-614.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., Pääbo, S., Villablanca, F. X., & Wilson, A. C. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals:

- amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(16), 6196-6200.
- Lázaro-Vázquez, A. (2017). *Presiones antropogénicas en la cuenca baja del río Grijalva en Tabasco, México*. Tesis de Maestría en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural, El Colegio de la Frontera Sur, Villahermosa, Tabasco, México.
- Lefebvre, L. W., Marmontel, M., Reid, J. P., Rathbun, G. B., & Domning, D. P. (2001). Distribution, status, and biogeography of the West Indian manatee. En C. Woods, & F. E. Sergile, *Biogeography of the West Indies: Patterns and perspectives* (págs. 425-474). Florida: CRC Press.
- Luna, F. O., Bonde, R., Attademo, F. L., Saunders, J. W., Meigs-Friend, G., Passavante, J. Z., & Hunter, M. E. (2012). Phylogeographic implications for release of critically endangered manatee calves rescued in Northeast Brazil. *Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystems*, 665-673.
- Marmontel, M. (1993). *Age determination and population biology of the Florida manatee, Trichechus manatus latirostris*. Tesis Doctoral, University of Florida.
- Marsh, H., O'Shea, T. J., & Reynolds, J. E. (2011). *Ecology and conservation of the Sirenia: Dugongs and Manatees*. Cambridge University Press.
- Mendez-Harclerode, F. M., Strauss, R. E., Fulhorst, C. F., Milazzo, M. L., Ruthyen III, D. C., & Bradley, R. D. (2007). Molecular evidence for high levels of intrapopulation genetic diversity in woodrats (*Neotoma micropus*). *Journal of mammalogy*, 88(2), 360-370.
- Morales-López, M., Olivera-Gómez, L. D., & Zenteno-Ruiz, C. E. (2012). Intervalo respiratorio y desplazamientos de manatíes antillanos *Trichechus manatus manatus* (Sirenia): Comparación entre las temporadas seca y lluviosa en una laguna aislada. *Mastozoología Neotropical*, 19(1), 117-126.
- Morales-Vela, B. D., Olivera-Gómez, D., Reynolds III, J. E., & Rathbun, G. B. (2000). Distribution and habitat use by manatees (*Trichechus manatus manatus*) in Belize and Chetumal Bay, Mexico. *Biological Conservation*, 95(1), 67-75.
- Morales-Vela, B., & Padilla-Saldivar, J. A. (2009). *Demografía, ecología y salud de la población de Manatíes (Trichechus manatus manatus) en Quintana Roo, y su variación y representación genética en México*. Chetumal, Quintana Roo, México: El Colegio de la Frontera Sur.
- Morales-Vela, B., Olivera-Gómez, D., Reynolds III, J. E., & Rathbun, G. B. (2000). Distribution and habitat use by manatees (*Trichechus manatus manatus*) in Belize and Chetumal Bay, Mexico. *Biological Conservation*, 95(1), 67-75.

- Morales-Vela, J. B., & Medrano-González, L. (1999). *Variación genética del manatí (Trichechus manatus), en el sureste de México y monitoreo con radio-transmisores en Quintana Roo*. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. H164, México D. F.
- Nei, M. (1987). Genetic distance and molecular phylogeny. En N. Ryman, & F. Utter, *Population Genetics and Fishery Management* (págs. 193-223). Seattle: University of Washington Press.
- Nourrison, C., Morales-Vela, B., Padilla-Saldivar, J., Pause-Tucker, K., Clark, A. M., Olivera-Gómez, L. D., . . . McGuire, P. (2011). Evidence of two genetic clusters of manatees with low genetic diversity in Mexico and implications for their conservation. *Genética*(139), 833-842. doi:10.1007/s10709-011-9583-z
- Olivera-Gómez, L. D. (2007). El Manatí y los sistemas de humedales en la cuenca de los ríos Usumacinta y Grijalva. *Simposio "Humedales de Tabasco, México"*. Villahermosa.
- Olivera-Gómez, L. D., & Jiménez-Domínguez, D. (2010). Distribución y amenazas para la conservación del Manatí (*Trichechus manatus*) en humedales de Tabasco. Villahermosa: Congreso de la Sociedad Mexicana de Zoología.
- Olivera-Gómez, L. D., & Mellink, E. (2005). Distribution of the Antillean manatee (*Trichechus m. manatus*) as a function of habitat characteristics in Bahía de Chetumal, Mexico. *Biological Conservation*(121), 127-133.
- Ortega-Argueta, A. (1997). *Uso actual de calceñas y cenotes por el Manatí del Caribe Trichechus manatus (Linnaeus, 1758) y el impacto del turismo en Quintana Roo, México*. Xalapa: Universidad Veracruzana.
- Ortega-Argueta, A., Portilla-Ochoa, E., & Morales-Vela, B. (2001). *Habitat evaluation and conservation of manatees on the Alvarado Lagoon, Veracruz, Mexico*. Programa de Manejo de Fauna Silvestre. Instituto de Ecología, A. C., Xalapa, Veracruz, México.
- Ortega-Ortiz, J. G., Delgado-Estrella, A., & Ortega-Argueta, A. (2004). Mamíferos marinos del Golfo de México: Estado actual del conocimiento y recomendaciones para su conservación. En M. Caso, & I. E. Pisanty, *Diagnóstico ambiental del Golfo de México, Tomo I* (págs. 135-160). SEMARNAT-INE-INECOL-HRIG-MS.
- O'Shea, T. J., & Hartley, W. C. (1995). Reproduction and early-age survival of manatees at Blue Spring, upper St. Johns River, Florida. *National Biological Service*, 157-176.
- Puc-Carrasco, G., Morales-Vela, B., Olivera-Gómez, L. D., & González-Solis, D. (2017). First field-based estimate of Antillean manatee abundance in the San Pedro River system suggest large error in current estimates for Mexico. *Ciencias Marinas*, 43(4), 285-299.

- Ramos-Reyes, R., Megía-Vera, H. J., & Landeros-Pascual, D. (2021). Modelo del cambio de uso de suelo en el sistema lagunar Carmen-Pajonal-Machona. *Terra Latinoamericana*, 39, 1-13. doi:<https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.587>
- Rector, A., Bossart, G. D., Ghim, S. J., Sundberg, J. P., Jenson, A. B., & Van Ranst, M. (2004). Characterization of a novel close-to-root papillomavirus from a Florida manatee by using multiply primed rolling-circle amplification: *Trichechus manatus latirostris* papillomavirus type 1. *Journal of Virology*(78), 12698-12702.
- Reep, R., & Bonde, R. (2006). *The Florida manatee: Biology and conservation*. University Press of Florida, USA.
- Robles-Saavedra, M. A., Morales-Vela, B., Scott, B. C., & Medrano, G. L. (2009). Identidad genética de los manatíes (*Trichechus manatus*) de México y un modelo simple de dispersión y diferenciación poblacional. En F. Cervantes, Y. Hortelano, & J. Vargas, *60 años de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM* (págs. 243-250). México, D. F.: Instituto de Biología de la UNAM.
- Rodas-Trejo, J., Romero-Berny, E. I., & Estrada, A. (2008). Distribution and conservation of the West Indian manatee (*Trichechus manatus manatus*) in the Catazajá wetlands of northeast Chiapas, México. *Tropical Conservation Science*, 1(4), 321-333.
- Romero-Calderón, A. G., Morales-Vela, B., Rosiles-Martínez, R., & Olivera-Gómez, L. D. (2016). Metals in bone tissue of Antillean Manatees from the Gulf of Mexico and Chetumal Bay, Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol*(96), 9-14.
- SEIACC. Secretaría de Bienestar, s. y. (2019). *Programa de ordenamiento ecológico regional del estado de Tabasco*. Villahermosa: Gobierno del estado de Tabasco.
- SEMARNAT. (2002). *Áreas Naturales Protegidas de México con decretos estatales*. (Vol. 2). SEMARNAT, INE, CONANP.
- SEMARNAT. (2011). *Manual de genética de la conservación*. México: Comisión Nacional Forestal.
- SEMARNAT. (2018). *Programa de Acción para la Conservación de la Especie Manatí (Trichechus manatus manatus)*. SEMARNAT/CONANP, México.
- SEMARNAT. (2020). *Programa de Acción para la Conservación de la Especie Manatí de las Antillas (Trichechus manatus manatus)*. SEMARNAT/CONANP, México.
- SEMARNAT/PROFEPA. (2018). *Reporte final atención de contingencia de manatíes en Tabasco*. Villahermosa: SEMARNAT.
- SERNYP. (1995). *Conservación, protección y manejo sustentable de la ictiofauna y el Manatí en el norte de Chiapas. 1995-2000*. Chiapas: SERNYP.

- Serrano, A., Daniel-Rentería, I. C., Hernández-Cabrera, T., Sánchez-Rojas, G., Cuervo-López, L., & Basáñez-Muñoz, A. (2017). . Is the West Indian Manatee (*Trichechus manatus*) at the Brink of Extinction in the State of Veracruz, Mexico? *Aquatic Mammals*, 43(2), 201-207.
- Srinivas, Y., Pande, A., Gole, S., Jothi, P. P., Magesh, K. M., Pathan, S., . . . Sivakumar, K. (2020). Mitochondrial phylogeography reveals high haplotype diversity and unique genetic lineage in Indian dugongs (*Dugong dugon*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 31(4), 818-829. doi:10.1002/aqc.3490
- Vianna, J. A., Bonde, R. K., Caballero, S., Giraldo, J. P., Lima, R. P., Clark, A., . . . Santos, F. R. (2006). Phylogeography, phylogeny and hybridization in trichechid sirenians: implications for manatee conservation. *Molecular Ecology*(15), 433-447.
- West, R. C., Psuty, N. P., & Thom, B. G. (1987). *Las tierras bajas de Tabasco en el sureste de México* (Tercera ed.). Villahermosa: Gobierno del estado de Tabasco, Instituto de Cultura de Tabasco.
- Westermeier, R. (2005). *Electrophoresis in practice*. Germany.
- Zinner, D., Groeneveld, L. F., Keller, C., & Roos, C. (2009). Mitochondrial phylogeography of baboons (*Papio* spp.) Indication for introgressive hybridization? *BMC evolutionary biology*, 9(1), 1-15.

Anexo I

Tabla 5. Listado de muestras, procedencia y grupo asignado para su análisis.

Muestra	Procedencia		
	Localidad	Municipio	Grupo asignado
LB	Arroyo El Llano Bitzales	Macuspana	PA
MAL	Arroyo El Maluco	Macuspana	PA
NA	Naranjos 2da sección	Macuspana	PA
BZ	Bitzal	Macuspana	PA
T001B	Laguna La Barbona	Balancán	PA
T007B	Laguna La Barbona	Balancán	PA
T011	Arroyo San Pedro	Balancán	PA
T012B	Laguna La Barbona	Balancán	PA
T024	Laguna La Barbona	Balancán	PA
T028	Laguna La Barbona	Balancán	PA
M0801	El coco	Centla	PA
SJ	San Juanito, Grijalva	Centla	PA
CR1	1ra. Sección Rivera Alta	Centla	PA
CHI	Ría. Chichicastle 3ra.	Centla	PA
CAN	Cañaverlito	Centla	PA
M051	Varamiento Usumacinta	E. Zapata	PA
M0902	Jonuta	Jonuta	PA
M0904	Torno Largo	Jonuta	PA
TUC	Tucuyal	Jonuta	PA
T002C	Laguna de las Ilusiones	Centro	LI
T004B	Laguna de las Ilusiones	Centro	LI
T017B	Laguna de las Ilusiones	Centro	LI
T020	Laguna de las Ilusiones	Centro	LI
T021	Laguna de las Ilusiones	Centro	LI
T025	Laguna de las Ilusiones	Centro	LI
T030	Laguna de las Ilusiones	Centro	LI
T031	Laguna de las Ilusiones	Centro	LI
LI2	Laguna de las Ilusiones	Centro	LI
TEC	Tecapa	Catazajá	CH
LGC	Laguna Cantemo Loma Bonita	Catazajá	CH
PAR	El paraíso	Catazajá	CH
CPA	Punta Arena	Catazajá	CH
PDC	Playas de Catazajá	Catazajá	CH
LGZ	Ignacio Zaragoza	Catazajá	CH