

## Informe final\* del Proyecto H164

### Variación genética del manatí (*Trichechus manatus*), en el sureste de México y monitoreo con radio-transmisores en Quintana Roo

**Responsable:** M en C. José Benjamín Morales Vela  
**Institución:** El Colegio de la Frontera Sur  
Unidad Chetumal División de Biodiversidad  
Departamento de Ecología y Sistemática Acuática  
**Dirección:** Zona Industrial # 2 Carretera Chetumal-Bacalar Km 2, Chetumal, Qroo,  
77000 , México  
**Correo electrónico:** [bmorales@nicte-ha.ecosur-qroo.mx](mailto:bmorales@nicte-ha.ecosur-qroo.mx)  
**Teléfono/Fax:** 01(963)21 666, 01(963)2 0076, 01(963)2 0115 Fax: 01(963)2 0447  
**Fecha de inicio:** Mayo 31, 1996  
**Fecha de término:** Agosto 7, 1998

**Principales resultados:** Base de datos, Informe final, Hoja de cálculo, Cartografía

**Forma de citar\*\* el informe final y otros resultados:** Morales Vela, J. B. y L. Medrano González.1999. Variación genética del manatí (*Trichechus manatus*), en el sureste de México y monitoreo con radio-transmisores en Quintana Roo. El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal. **Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. H164.** México D. F.

**Forma de citar hoja de cálculo** Morales Vela, J. B. y L. Medrano González.1999. Variación genética del manatí (*Trichechus manatus*), en el sureste de México y monitoreo con radio-transmisores en Quintana Roo. El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal. **Hoja de cálculo SNIB-CONABIO proyecto No. H164.** México D. F.

#### Resumen:

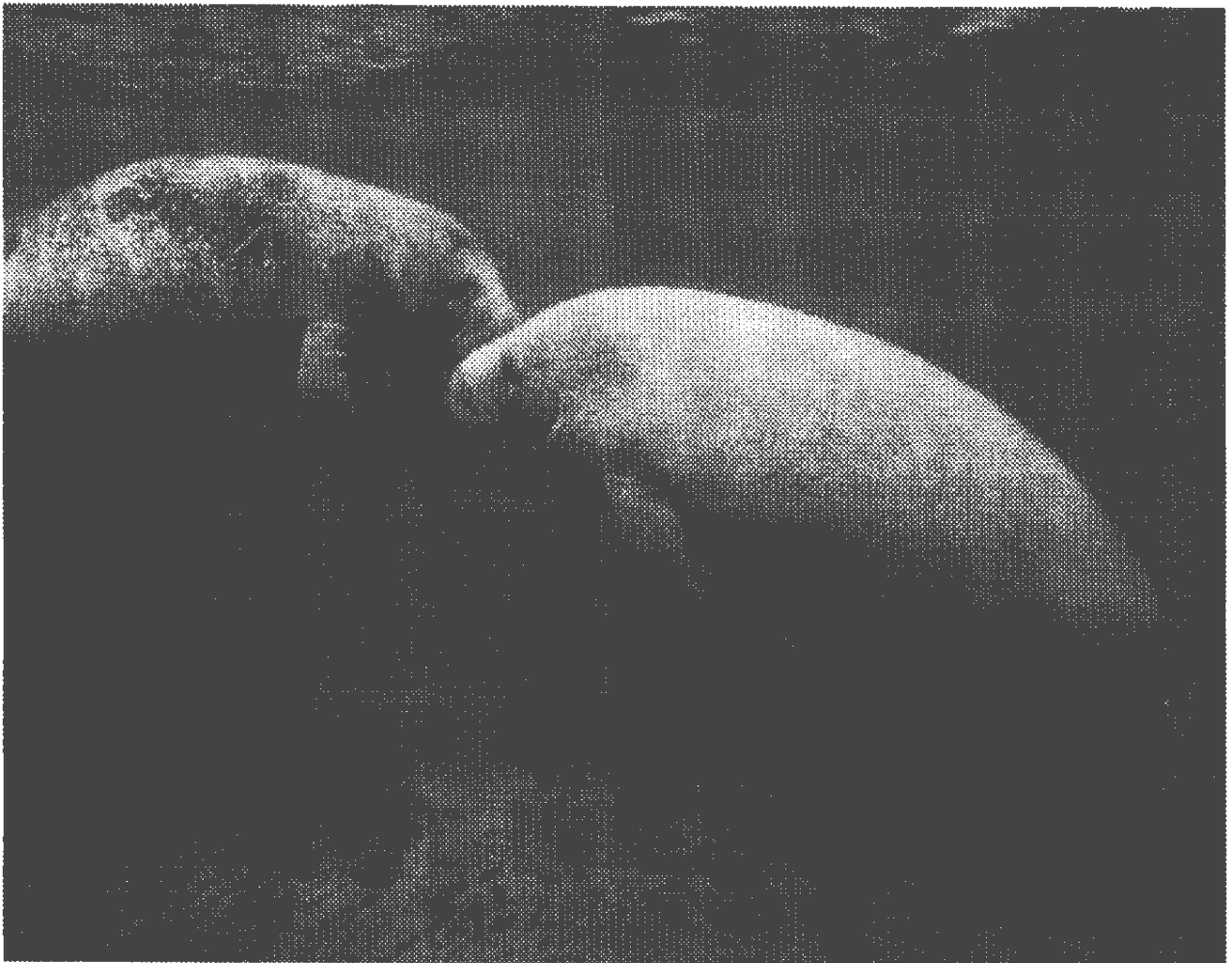
Los objetivos del presente proyecto son: 1) Analizar la variación geográfica del DNA mitocondrial del manatí en el sureste de México. 2) Conocer los patrones generales de movimientos y describir las áreas de mayor uso para la población de manatíes existente en Quintana Roo. 3) Elaborar una base de datos en Access 2.0 con la primera información sobre genética y distribución de manatíes en México. Genética: Se hizo un estudio preliminar de la variación genética en el DNA mitocondrial (mt) y en el locus DQb del complejo mayor de histocompatibilidad en 14 manatíes (*Trichechus manatus*) de la laguna de Catazaja, Chiapas y la bahía de Chetumal, Quintana Roo. Los resultados en conjunto sugieren que unidades geográficas, con poca o ninguna relación hidrológica, corresponden a unidades poblacionales naturales entre las que hay flujo génico apenas mayor en los machos que en las hembras. Aunque en México la variación genética no parece diezmada, si presenta evidencias de una reducción poblacional drástica reciente y fragmentación con consiguiente interrupción del flujo génico. Por lo anterior, la protección de los manatíes en México es importante, en tanto que eso tendría repercusiones en el estado y continuidad poblacional de la especie en toda su distribución geográfica. Telemetría: De junio de 1996 a agosto de 1997 se realizaron 200 búsquedas a los siete manatíes marcados en la bahía de Chetumal (dos en 1994 y cinco en 1996-1997), de estos seguimientos el 55.5% fue exitoso ubicando a los manatíes. Con esto se tienen los primeros datos sobre el grado de fidelidad que han presentado algunos de los manatíes marcados y de lo cual no se tenía información en México. Los resultados obtenidos sobre movimientos, distribución espacial, fidelidad, ubicación de áreas de alta densidad de manatíes y zonas críticas, darán fuerte apoyo técnico al programa de manejo de esta nueva área protegida para el manatí, que es la bahía de Chetumal.

- 
- \* El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en [www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx)
  - \*\* El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

**COMISION NACIONAL PARA EL CONOCIMIENTO  
Y USO DE LA BIODIVERSIDAD**

**INFORME FINAL  
PROYECTO H164**

**"Variación genética del manatí (*Trichechus manatus*), en el sureste de México y monitoreo con radiotransmisores en Quintana Roo"**



\*Foto cortesía de Francois Gohier.

**"Variación genética del manatí (*Trichechus manatus*), en el sureste de México y monitoreo con radiotransmisores en Quintana Roo"**

Responsable: **Benjamín Morales Vela**

El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal  
Carretera Chetumal-Bacalar, Zona Industrial No. 2.  
Apartado Postal 424. Chetumal, Quintana Roo. 77000. MEXICO

Corresponsable: **Luis Medrano González**

Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México  
Circuito exterior, Ciudad Universitaria. México, D. F. 04510. MEXICO

School of Biological Sciences, University of Auckland  
Private Bag 92019. Auckland. NUEVA ZELANDA

Octubre de 1997

# CONTENIDO

<b>1. ASPECTOS GENERALES DEL PROYECTO .....</b>	<b>2</b>
ANTECEDENTES .....	3
OBJETIVOS .....	4
AREA DE ESTUDIO .....	4
PRODUCTOS ESPERADOS .....	7
ANALISIS DE LAS METAS LOGRADAS .....	7
RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS .....	8
REFERENCIAS .....	9
<b>2. GENETICA. Análisis preliminar de la variación del DNA mitocondrial y del complejo mayor de histocompatibilidad en la laguna de Catzajá, Chiapas y en la bahía de Chetumal, Quintana Roo.....</b>	<b>12</b>
RESUMEN .....	13
ABSTRACT .....	14
INTRODUCCION .....	15
ANTECEDENTES .....	17
OBJETIVOS .....	18
DESARROLLO DEL PROYECTO .....	18
METODOS .....	19
RESULTADOS Y DISCUSION .....	22
Variación del mtDNA .....	22
Variación del locus DQ $\beta$ .....	29
Contrastación de la variación mitocondrial y del locus DQ $\beta$ .....	32
BASE DE DATOS .....	32
COMENTARIOS FINALES .....	33
AGRADECIMIENTOS .....	34
REFERENCIAS .....	35
<b>3. TELEMETRIA. Monitoreo de manatíes marcados con radiotransmisores en Quintana Roo.....</b>	<b>39</b>
RESUMEN .....	40
ABSTRACT .....	41
ANTECEDENTES .....	42
OBJETIVOS .....	42
AREA DE ESTUDIO .....	42
METODOS .....	44
RESULTADOS Y DISCUSION .....	47
Manatíes marcados .....	47
Seguimientos .....	48
Distribución espacial y zonas de uso constante .....	51
Fidelidad .....	54
Movimientos estacionales .....	55
BASE DE DATOS .....	58
AGRADECIMIENTOS .....	59
REFERENCIAS .....	60
APENDICE I. Ubicaciones de los manatíes marcados .....	61
APENDICE II. Tabla de secuencias genéticas .....	83

## 1. ASPECTOS GENERALES DEL PROYECTO

Aunque es clara la necesidad de estudiar y conservar la diversidad biológica ante el deterioro ambiental y las enormes tasas de extinción actuales, no lo es tanto qué estrategias deben seguirse para lograrlo. Aparte de las muchas restricciones políticas, económicas y sociales en el plano solamente técnico, parece inevitable que deba atenderse el cuidado particular de las poblaciones, si se desean disminuir los riesgos de extinción. La conservación sustentable de las especies, por tanto, requiere del conocimiento de su estructura poblacional y es particularmente importante, determinar la identidad y la subdivisión geográfica que tengan las poblaciones en la naturaleza, de manera que se definan unidades naturales de manejo para planes inmediatos y, unidades de significancia evolutiva que se consideren a largo plazo (Amos y Hoelzel 1992, Moritz 1994a, Vogler y Desalle 1994).

El desarrollo de este proyecto dio continuidad a un programa a largo plazo sobre seguimiento de manatíes radio-marcados iniciado en Quintana Roo, con una visión de extenderlo a todo el sureste de México. Al inicio de este estudio se contaba con dos manatíes hembras marcadas con radiotransmisores VHF, capturadas en noviembre de 1994 en la bahía de Chetumal, y una muestra de sangre y piel de una de las hembras (Permiso: Oficio INE A00-700(2)-00364), y con ocho muestras de piel y cinco de sangre, de ocho manatíes procedentes de la Laguna de San Juan, Chiapas, que requirieron ser translocados a la Laguna de Catazajá, Chiapas (Morales y Olivera 1996). Ahora se marcaron tres manatíes más, (Permiso: Oficio INE D00-702-3019), se cambió el radiotransmisor a la hembra Carmen marcada en 1994 y se colectaron siete muestras de sangre y algunas de piel. En mayo de 1997 se radio-marcaron otros dos manatíes (Permiso: Oficio INE DOO 750-3918/97) y se colectaron tres muestras de sangre. En resumen, de 1994 a 1997, se han colocado 8 transmisores en siete manatíes de la bahía de Chetumal, siete tipo VHF (very high frequency) y uno de satélite PTT (platform terminal transmitter), y se logró analizar 14 muestras de sangre y piel para obtener sus haplotipos mitocondriales y 12 muestras para conocer los genotipos del locus DQ $\beta$ . A pesar del pequeño tamaño de muestra analizado, los resultados dan una primera noción sobre la historia y estructura filogeográfica de los manatíes como especie. También los análisis de variación mitocondrial realizados, son un fuerte complemento a los trabajos de la Dra. García, sobre definición de clados mitocondriales del manatí en toda la región del Gran Caribe. Estas secuencias de nucleótidos del ADN mitocondrial se integraron a una base de datos en Access 2.0.

Este esfuerzo se deriva de los apoyos recibidos en diferentes periodos y magnitud, por parte de: CONACYT (N9301-2017, 1994-1996), CONABIO (H164, 1996-1997), Instituto Nacional de Ecología (INE, 1994-1997), Sirenia Project del Florida Caribbean Science Center (U.S. Geological Survey, 1992-1997), School of Biological Sciences (University of Auckland, 1997), Armada de México (11 a. Zona Naval, 1997) y ECOSUR.

## ANTECEDENTES

El manatí de las Indias Occidentales (*Trichechus manatus*), es una especie considerada en peligro de extinción a nivel nacional (NOM-059-ECOL/1994) e internacional (CITES Apéndice I. 1995). La IUCN la considera como "amenazada" (Thomback y Jenkins 1982).

Esta especie está formada por dos subespecies; el manatí de Florida (*Trichechus manatus latirostris*) y el manatí del Caribe (*T. m. manatus*) que se encuentra en las Antillas, costa atlántica de México, Centroamérica y costa noreste de América del Sur (Reynolds y Odell 1991). El conteo mínimo poblacional de la subespecie de Florida es de 2639 manatíes (Domning 1996). De la segunda no existe estimación, pero se conoce que Belice es el país en el que se encuentra la mayor concentración en todo el Caribe (O'Shea y Salisbury 1991).

En México su distribución va desde Nautla, Veracruz, hasta el sur de Quintana Roo, pero sólo en unas cuantas zonas son relativamente comunes (Colmenero 1984; Colmenero y Hoz 1986 y Lefebvre *et al.*, 1989). Esta distribución está fraccionada como resultado de la explotación intensa a la que se sometió desde el siglo XVI y aunque hay estimaciones del número de manatíes presentes en áreas distintas, no se conoce casi nada sobre tamaños poblacionales absolutos, tamaños poblacionales originales y estructura filogeográfica (Colmenero-Rolón 1991, Hartman 1974, Morales-Vela (en preparación), Reeves *et al.* 1992). Hasta la fecha no se cuenta con una estimación del tamaño poblacional a nivel nacional, pero los estados que concentran a la mayor población son Tabasco, Campeche y Quintana Roo. En éste último, los manatíes se agrupan principalmente en tres áreas: bahía de Chetumal, Reserva de la Biósfera de Sian Ka'an y la zona de caletas y cenotes comprendida entre Tulum y Playa del Carmen. Para todo Quintana Roo se tiene una primera estimación del tamaño poblacional realizada en 1987 y 1988 con alrededor de 110 animales (Colmenero *et al.*, 1988). Datos más recientes permiten inferir que la población está cerca de los 200 manatíes (datos no publicados, ECOSUR). Para la bahía de Chetumal se estimó un promedio poblacional de 90 manatíes, con una variación de 51 a 130 animales y un índice de abundancia relativa (IAR) de 12.3 manatíes/hora de vuelo (Morales y Olivera 1994).

En México, los manatíes se usaron como fuente de subsistencia desde tiempos precolombinos, tal vez desde el preclásico por los mayas e incluso por los olmecas arqueológicos (Bradley 1983, McKillop 1985). Es probable que tal uso se haya incrementado a partir del postclásico cuando la población maya se concentró más hacia las costas y desarrolló actividades pesqueras diversas y comercio alrededor de la península de Yucatán entre Honduras y Campeche (véase Thompson 1954). Otras culturas aborígenes del Caribe también dependieron del manatí para subsistir (McKillop 1985). Misioneros como Landa (ca 1560) y Sahagún (ca 1580) documentaron la caza regular y uso de los manatíes entre los nativos de Yucatán y regiones aledañas durante el siglo XVI. Después de la conquista europea, los manatíes se cazaron intensamente acrecentando el comercio de sus productos y haciendo con ellos vitualla usual de los buques que navegaban la región (véase Durand 1950, Reeves *et al.*

1992). Esta explotación continuó hasta el siglo XIX en forma regular y fue solamente la depleción de las poblaciones de manatíes la que aminoró su captura.

Durante el siglo XX los manatíes se han continuado utilizando para subsistencia en comunidades rurales pero enfrentan mayores amenazas por la contaminación y destrucción de su hábitat para usos urbanos, industriales, extractivos, agrícolas, pesqueros y turísticos. En Florida es preocupante la afinidad de los manatíes por congregarse en lugares de descarga industrial térmica durante el invierno. En Florida adicionalmente, el daño causado a estos animales por el tráfico de embarcaciones es considerable. Se acepta que el manatí en toda su distribución geográfica es una especie vulnerable, amenazada o en peligro de extinción (Marsh y Lefebvre 1994, Reeves *et al.* 1992). En Florida se ha determinado un tasa de crecimiento poblacional ligeramente negativa y si se incrementa la tasa de mortalidad en 10%, la especie podría extinguirse en esa región en pocos cientos de años (Marmontel *et al.* 1997). Eventos de mortalidad masiva, que pueden significar fluctuaciones en la tasa de mortalidad con alto riesgo de extinción súbita, se han observado en varias ocasiones en los manatíes con asociación posible a deficiencias inmunológicas (IUCN/SSC 1997).

## **OBJETIVOS**

- Analizar la variación geográfica del DNA mitocondrial del manatí, en dos sistemas hidrológicos del sureste de México, para identificar unidades de manejo y determinar la antigüedad de los linajes y el tamaño efectivo de sus poblaciones a largo plazo.

- Conocer los patrones generales de movimientos y describir las áreas de mayor uso para la población de manatíes existente en Quintana Roo.

- Elaborar una base de datos en Access 2.0 con la primera información sobre genética de manatíes, movimientos y características de las áreas de alto uso en México.

## **AREA DE ESTUDIO**

Para estudios sobre genética, se usaron las muestras provenientes de la Laguna de San Juan, perteneciente al municipio de Catazajá, Chiapas, y que está ubicada en 17°46'44" N, 91°55'45" W (figura 1.1). Las muestras del Caribe mexicano, provienen de la bahía de Chetumal, ubicada en el extremo sur de Quintana Roo (figura 1.2). En esta misma bahía se desarrollaron los estudios sobre telemetría y seguimiento de manatíes. Desde octubre de 1996 la bahía de Chetumal es un área de conservación para el manatí (Periódico Oficial, 1996).

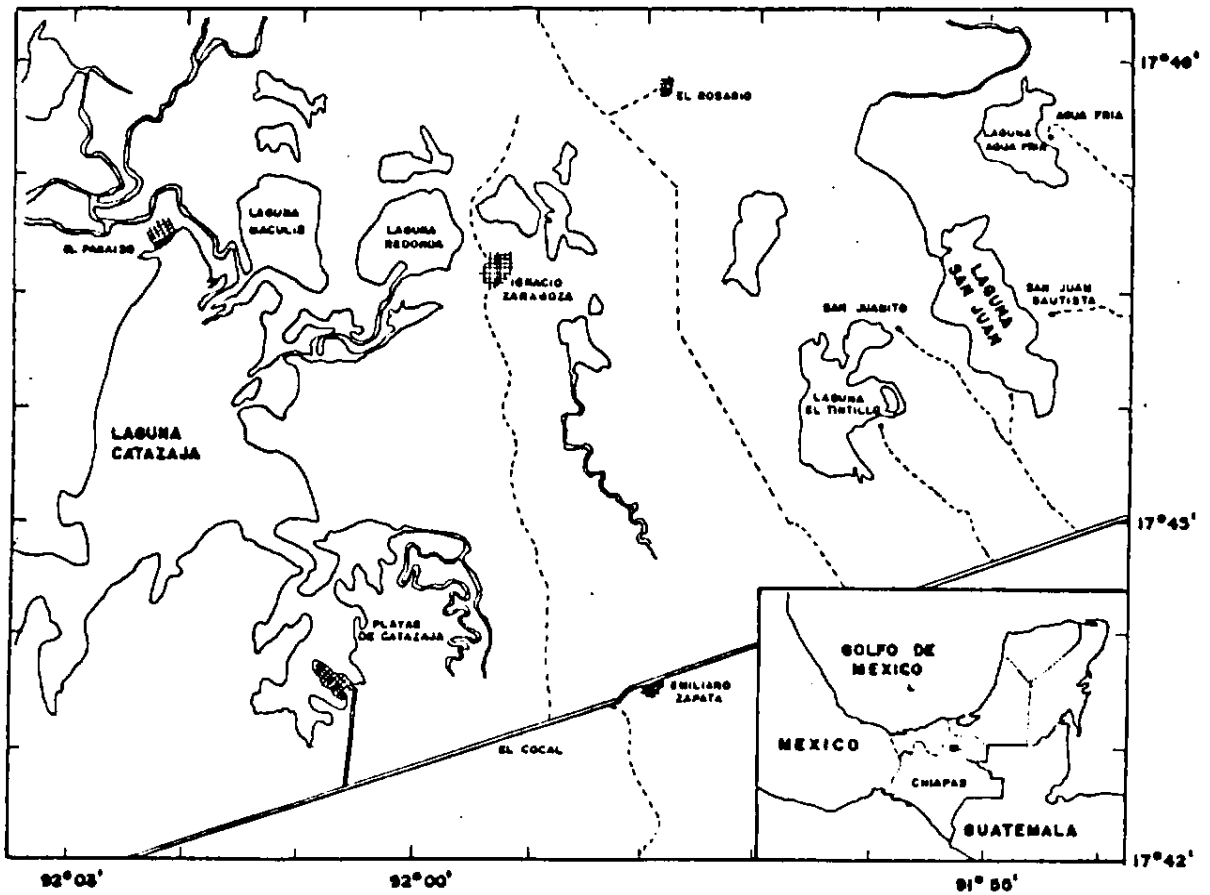


Figura 1.1. Laguna de San Juan, Catzajá, Chiapas. Sitio de colecta de muestras sanguíneas de manatí.



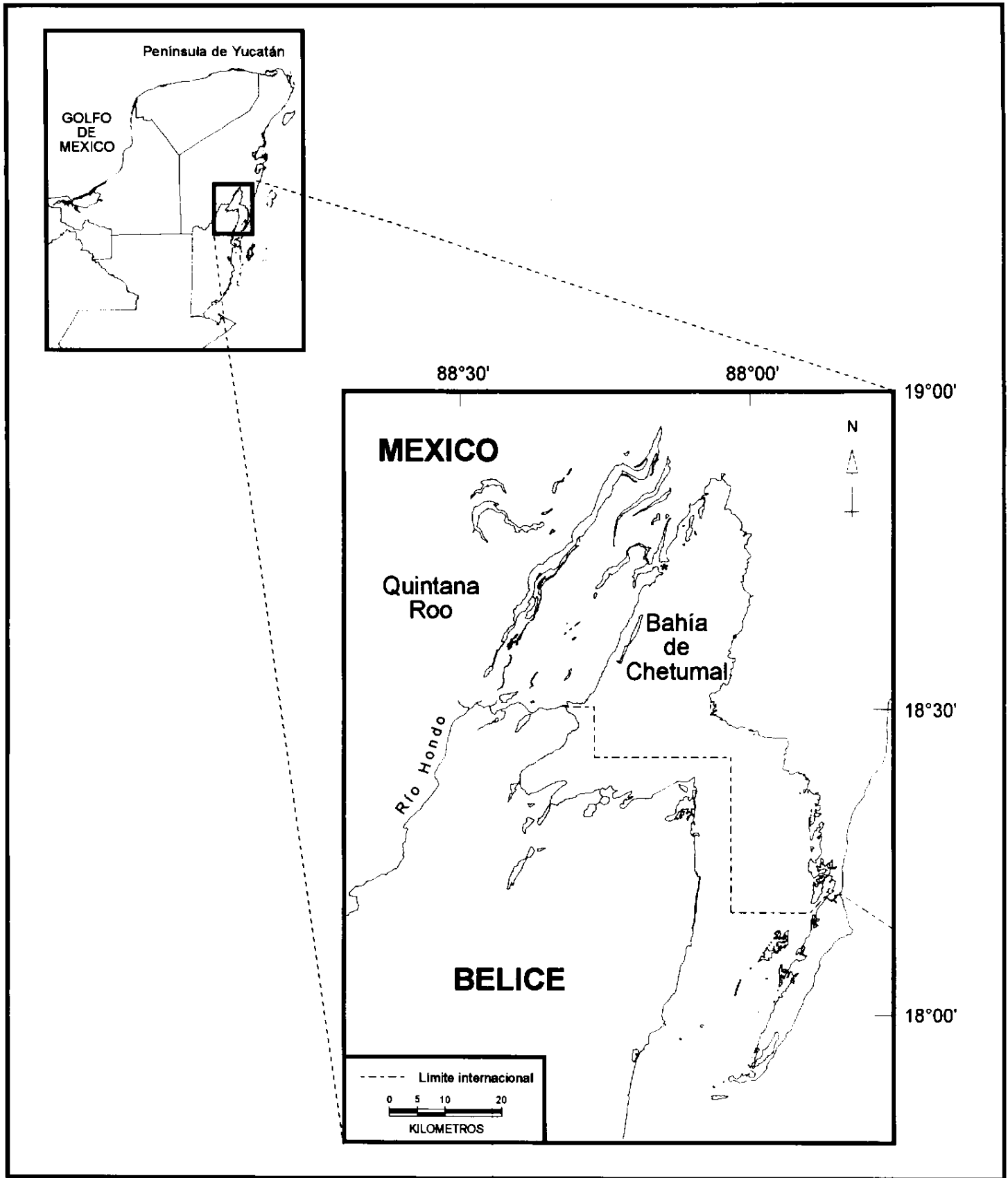


Figura 1.2. Bahía de Chetumal, Quintana Roo, México. \*Sitio de radio-marcaje de manatíes y de colecta de muestras sanguíneas.

## **PRODUCTOS ESPERADOS**

- Se espera tener extractos de DNA total que sean útiles para análisis futuros de variación de genes nucleares y para análisis de parentescos, que quedarán a resguardo del Laboratorio de Mamíferos marinos de la FCUNAM.

-Se elaborará la primera base de datos de secuencias de DNA mitocondrial de los manatíes de México. Se incrementará la base de datos elaborada en Access 2.0, iniciada en 1995, sobre la ubicación de los manatíes, desplazamientos y descripción de áreas críticas, utilizadas por los animales en Quintana Roo.

-Se obtendrán mapas digitalizados de distribución, movimientos, y zonificación de áreas críticas para esta especie en la bahía de Chetumal.

-Se pretende capacitar a personal para el seguimiento de animales con radiotransmisores e iniciarlos en el uso de técnicas de telemetría en manatíes.

## **ANALISIS DE LAS METAS LOGRADAS**

Los resultados obtenidos de genética y telemetría de manatíes cubrieron al 100% las metas planteadas, obteniéndose información original y valiosa para la conservación y manejo de esta especie a nivel nacional y en particular para el estado de Quintana Roo y Chiapas. Se da respuesta a muchas preguntas planteadas, se formulan nuevas hipótesis y se abre un nuevo camino de investigación tanto de genética, como de seguimiento de manatíes, para conocer aspectos de reproducción, desplazamientos y patrones de uso, entre otros.

Se cuenta con muestras de sangre de manatíes mexicanos para análisis genéticos, se inició la primera base de datos de secuencias de nucleótidos de manatíes de México y se incrementó la base de datos ya existente sobre movimientos y uso de hábitat por el manatí en Quintana Roo. Se aplicó la tecnología en México de radiotransmisores vía satélite para manatíes y se mejoraron las técnicas de captura, marcaje y manejo de estos mamíferos, así como de extracción de muestras de sangre y piel. También se dio un paso muy importante al poder iniciar los primeros estudios sobre la variación genética del mtDNA de los manatíes en dos localidades del sureste de México, para generar una noción sobre la estructura, historia y capacidad de respuesta inmunológica en las poblaciones de esta especie amenazada.

## RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

Se debe dar continuidad al programa de monitoreo con radiotransmisores de manatíes en México, esta técnica es aplicable perfectamente en nuestro país, con resultados exitosos. En ECOSUR ya se tiene el equipo y personal especializado, para capacitar a otros grupos de investigación del país y del extranjero, que quieran aplicar esta técnica. Para Quintana Roo se requiere continuar dando seguimiento a los manatíes marcados en el Santuario de bahía de Chetumal, se tiene una hembra con cría marcada desde noviembre de 1994 y dos hembras y un macho marcados en 1996-1997, que están dando nueva información. Es necesario incrementar la muestra a un mínimo de 10% de la población de Quintana Roo estimada en 200 animales, para establecer patrones poblacionales de movimientos, uso de áreas y parámetros reproductivos, entre otros aspectos. Como resultado de este proyecto, se recomienda usar transmisores de satélite para los machos, que han probado tener mayor nivel de movimiento y cambio de áreas que las hembras, lo que hace muy difícil y poco eficiente su seguimiento con radios del tipo VHF. Es necesario pensar inicialmente en una muestra de por lo menos 3 machos, que permitan cubrir las posibles pérdidas de animales por razones varias, (como ocurrió en este proyecto) y equilibrar los gastos de pago de servicio ARGOS por uso de satélite e información obtenida.

También se requiere atender a los manatíes que habitan las caletas y cenotes de la costa central del Estado, donde existe el creciente reto de equilibrar la conservación de los hábitats críticos para los manatíes con el fuerte desarrollo turístico que hace uso de estos hábitats. Los inversionistas, así como el Gobierno Estatal y Federal, necesitan información confiable para fijar políticas y estrategias de conservación adecuadas a esta área.

El uso de telemetría ha probado ser un método adecuado para el seguimiento de manatíes en las condiciones existentes en Quintana Roo, por lo que su aplicación sería exitosa a nivel nacional, haciendo los ajustes y planeación adecuados para su uso. Las áreas de distribución del manatí son en su mayoría, lugares con agua turbia de grandes extensiones y amplia distribución fragmentada, como ocurre en la cuenca hidrológica del río Usumacinta, que estimamos es la zona con mayor concentración de manatíes en México, población que apenas ha sido evaluada en algunos aspectos generales.

Los resultados obtenidos de genética no son conclusivos, se requiere incrementar el tamaño y cobertura de las muestras de tejidos y pensar en un diseño aleatorio para esta colecta, encaminada a describir de forma integral la variación genética de esta especie a nivel nacional. Una forma de lograr esto, es realizar avances por regiones, por lo que deberá desarrollarse mayor esfuerzo en terminar la colecta de muestras procedentes de Quintana Roo, Chiapas y posteriormente extenderse a Tabasco, Campeche y Veracruz.

## REFERENCIAS

- Amos B. y Hoelzel A.R. 1992. Applications of molecular genetic techniques to the conservation of small populations. *Biological Conservation* 61: 133-144.
- Bradley R. 1983. The pre-columbian exploitation of the manatee in Mesoamerica. *Papers in Anthropology*. University of Oklahoma. Norman, OK.
- CITES 1995. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Appendix I.
- Colmenero R.,L.C. 1984. Nuevos registros del manatí (*T. manatus*) en el sureste de México. *Ans. Inst. Biol. Univ. Nal. Mitón. Méx. Ser Zool.* 54(1): 243-254
- Colmenero R.,L.C. y M.E. Hoz Z. 1986. Distribución de los manatíes, situación y su conservación en México. *Ans. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. Méx. Ser. Zool.* 56(3): 955-1020.
- Colmenero R.,L.C., Azcárate C.,J. y Zárate B. E. 1988. Estado y distribución del manatí en Quintana Roo. Reporte Final de Investigación CIQRO/USFWS/SEDUE 144 pp.
- Colmenero R.,L.C. 1991. Propuesta de un plan de recuperación para la población del manatí *Trichechus manatus* de México. *Ans. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. Méx. Ser. Zool.* 62(2):203-218
- Domning, D. P. 1996. Editorial: bad news or good? *Sirenews, Newsletter of the IUCN/SSC*. N. 25: 1-3. Abril 1996.
- Durand J. 1950. Ocaso de sirenas, esplendor de manatíes. 2a ed. Fondo de Cultura Económica. México, DF. 1983.
- Hartman D.S. 1974. Distribution, status and conservation of the manatee in the United States. National Technical Information Service. PB81-140725. Springfield, VI.
- IUCN/SSC. 1997. *Sirenews* 27. April.
- Landa Fr. D. ca 1560. Relación de las cosas de Yucatán. Editorial Porrúa. México, DF. 1973.
- Lefebvre, L.W., T.J. O'Shea, G.B. Rathbun and R.C. Best. 1989 Distribution, Status, and Biogeography of the West Indian Manatee. pp:567-610 In: Woods, C.A. (ed.) *Biogeography of the West Indies; Past, Present and Future*. Sandhill Crane Press, Gainesville, FL. 878 pp.

- Marmontel M., Humphrey S.R. y O'Shea T.J. 1997. Population viability analysis of the Florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*), 1976-1991. *Conservation Biology* 11: 467-481.
- Marsh H. y Lefebvre L.W. 1994. Sirenian status and conservation efforts. *Aquatic Mammals* 20: 155-170.
- McKillop H.I. 1985. Prehistoric exploitation of the manatee in the Maya and circum-Caribbean areas. *World Archaeology* 16: 337-353.
- Morales V., B. y L.D. Olivera G. 1994a. Distribución Espacial y Estimación Poblacional de los manatíes en la bahía de Chetumal, Quintana Roo, México. *Rev. Inv. Cient.* 2 (No. Esp. SOMEMMA 2), UABCS: 27-52.
- Morales V., B. y L.D. Olivera G. 1996. Manatee Rescue in Chiapas. *Sirenews, Newsletter of the IUCN/SSC*. N. 25: 11. Abril 1996.
- Morales-Vela B. En preparación. Fluctuación poblacional, movimientos y uso de hábitat del manatí (*Trichechus manatus*) en la Bahía de Chetumal, Q. Roo, México. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF.
- Moritz C. 1994a. Defining 'evolutionary significant units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 373-375.
- NOM-059-ECOL-1994 Acuerdo por el que se establecen los Criterios Ecológicos que determinan las especies y subespecies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas, raras y las sujetas a protección especial, y que establece especificaciones para su protección, *Diario Oficial de la Federación*. 16/05/1991. pp:2-60 Tomo CDLXXXVIII (10), México, D.F.
- O'Shea, T.J. and C. A. Lex' Salisbury. 1991. Belize - a last stronghold for manatees in the Caribbean. *ORYX* 25(3):156-164
- Periódico Oficial de Quintana Roo. 1996. Decreto por el cual se declara como Area Natural Protegida a la región conocida como Bahía de Chetumal, en la categoría de zona sujeta a conservación ecológica, Santuario del Manatí, ubicada en el municipio de Othón P. Blanco, estado de Quintana Roo. Gobierno de Quintana Roo, tomo III No. 24 Extraordinario, 5a. época, 24 de octubre, 1996. 10 pp.
- Reeves R.R., Stewart B.S. y Leatherwood S. 1992. *The Sierra Club handbook of seals and sirenians*. Sierra Club Books. San Francisco, CA.
- Reynolds, J.E. III y D.K. Odell, 1991. *Manatees and Dugongs*. New York, Facts in File:xiv +192 pp.

Sahagún Fr.B. ca 1580. Historia general de las cosas de Nueva España. 8a ed. Editorial Porrúa. México, DF. 1992.

Thompson J.E.S. 1954. Grandeza y decadencia de los mayas. 3a ed. Fondo de Cultura Económica. México, DF. 1994.

Thomback, J. y M. Jenkins (Compiladores). 1982. Caribbean Manatee pp: 429-438. *In*: The IUCN Mammal Red Data Book Part 1. IUCN Conservation Monitoring Centre. International Union for Conservation of Nature and Natural Resource. Gland, Switzerland. 516 pp.

Vogler A.P. y Desalle R. 1994. Diagnosing units of conservation management. *Conservation Biology* 8: 354-363.

## **2. GENETICA**

### **Análisis preliminar de la variación del DNA mitocondrial y del complejo mayor de histocompatibilidad en la laguna de Catazajá, Chiapas y en la bahía de Chetumal, Quintana Roo.**

Luis Medrano González<sup>1,4</sup>, Benjamín Morales Vela<sup>2</sup>, Angela I. García Rodríguez<sup>3</sup>,  
María Rosalba Robles Saavedra<sup>1,4</sup> y Scott Baker<sup>4</sup>

1. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México  
Circuito exterior, Ciudad Universitaria. México, DF. 04510. MEXICO

2. El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal  
Carretera Chetumal-Bacalar, Zona Industrial No. 2.  
Apartado Postal 424. Chetumal, Quintana Roo. 77000. MEXICO

3. US Geological Survey. Sirenia Project, Florida Caribbean Science Center  
412 NE 16th Avenue, Room 250. Gainesville, Florida. 32601-3701. USA

4. School of Biological Sciences, University of Auckland  
Private Bag 92019. Auckland. NUEVA ZELANDA

## RESUMEN

Se hizo un estudio preliminar de la variación genética en el DNA mitocondrial (mt) y en el locus DQ $\beta$  del complejo mayor de histocompatibilidad en 14 manatíes (*Trichechus manatus*) de la laguna de Catazajá, Chiapas y la bahía de Chetumal, Quintana Roo. Se determinó una secuencia de 390 pb en la región 5' de la cadena pesada de la región control del mtDNA y se identificaron los polimorfismos de conformación de cadena sencilla (SSCP) en un fragmento de aproximadamente 200 pb en el locus DQ $\beta$ . Ambos marcadores genéticos indicaron una diferenciación entre las dos localidades con valores de flujo génico (Nm) semejantes y menores a un migrante por generación. Las secuencias del mtDNA se compararon con las de manatíes de otras regiones encontrándose que en México coexisten clados característicos de Centroamérica así como de las Antillas Mayores y Florida. Se demostró que la variación mitocondrial es neutral aunque con una deficiencia marginal en el número de diferencias nucleotídicas entre los individuos. La distribución de tiempos de coalescencia mostró signos de fragmentación poblacional, un tamaño poblacional efectivo a largo plazo de  $10^5$ - $10^6$  animales y una antigüedad promedio de los clados mitocondriales actuales cercana a los 50,000 años. El locus DQ $\beta$  se encontró en equilibrio Hardy-Weinberg al examinar cada localidad y con un pequeño efecto Wahlund al combinar ambas. El nivel de variación del locus DQ $\beta$  se halló similar al de otros mamíferos y con evidencia de linajes alélicos muy antiguos interpretados como polimorfismo transespecífico mantenido por selección balanceadora.

Estos resultados en conjunto sugieren que unidades geográficas, con poca o ninguna relación hidrológica, corresponden a unidades poblacionales naturales entre las que hay flujo génico apenas mayor en los machos que en las hembras. Esto deriva probablemente de hábitos filopátricos para la reproducción. *T. manatus* en toda su distribución geográfica en general parece constituir una metapoblación subdividida, con flujo génico entre sus unidades y aislamiento entre ellas por distancia. Esta distribución asimismo parece asociarse a una expansión dependiente del incremento en la temperatura y/o el nivel del mar. En México ocurre o ha ocurrido flujo génico entre regiones apartadas de la distribución actual de la especie. 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.

Por lo anterior, la protección de los manatíes en México es importante, en tanto que eso tendría repercusiones en el estado y continuidad poblacional de la especie en toda su distribución geográfica. Si bien los resultados de este trabajo han sido muy informativos gracias a su carácter categórico y a la estructura misma de la variación genética, son aún muy pobres en términos del tamaño de muestra y su completez geográfica en México para ser conclusivos.



## ABSTRACT

A preliminary study of genetic variation in the mitochondrial (mt) DNA and the DQ $\beta$  locus of the major histocompatibility complex was done for 14 manatee (*Trichechus manatus*) samples from the lagoons of Catazajá, Chiapas and Chetumal, Quintana Roo. A sequence of 390 bp of the 5' end of the control region in the heavy chain of the mtDNA was determined and single strand conformation polymorphisms (SSCP) were identified in a fragment with length close to 200 bp of the DQ $\beta$  locus. Both genetic markers indicated differentiation between the two locations with similar gene flow values (Nm), which were smaller than one migrant per generation. mtDNA sequences were compared with those of manatees from other regions and it was found that clades characteristic of Central America as well as from the Major West Indies and Florida coexist in Mexico. mtDNA variation was demonstrated to be neutral and with a marginal deficiency in the number of nucleotide differences between individuals. The distribution of coalescence times showed evidence of population fragmentation, a long term effective population size of  $10^5$ - $10^6$  animals and an average age of current mitochondrial clades of about 50,000 years. The DQ $\beta$  locus showed to be in Hardy-Weinberg equilibrium examining each separate location and having a small Wahlund effect when combining both. The variation level of the DQ $\beta$  locus was found to be similar to other mammals, with evidence of very ancient allelic lineages interpreted as trans-specific polymorphism maintained by balancing selection.

Altogether, these results suggest that geographic units with none or poor hydrologic relationship correspond to natural populational units having gene flow between them which is just slightly larger in males than in females. This fact probably derives from phylopatric breeding habits. In all its geographic distribution, *T. manatus* seems to constitute a subdivided metapopulation having gene flow and isolation by distance between its units. This distribution also seems associated with an expansion dependent on the increment of the sea temperature and/or level. In Mexico, gene flow between distant regions of the species current distribution occurs or has occurred. In Mexico the genetic variation does not look decimated but does show signs of a recent drastic reduction and fragmentation with consequent interruption of gene flow.

All the above suggests that protection of manatees in Mexico is important as this would have effects on the status and populational continuity of the species in its whole geographic distribution. Although the results of this work have been very informative because of their categoric character and because of the genetic variation structure itself, they are still too poor in terms of sample size and geographic completeness within Mexico to be conclusive.

## INTRODUCCION

En general, se acepta que el análisis de DNA mitocondrial (mt) es una herramienta útil para la definición de unidades de manejo, las cuales se definen como unidades poblacionales geográfica y/o temporalmente delimitadas, que difieren significativamente en la frecuencia de los haplotipos de este marcador genético, aún habiendo parafilia (Moritz 1994a). Con el desarrollo de la teoría de la coalescencia (Avise 1994, Avise *et al.* 1988), el análisis de los linajes maternos ha permitido también realizar algunas inferencias demográficas y de la historia reciente de las poblaciones, que son útiles para determinar la respuesta de las poblaciones a la interacción con el hombre y algunas de sus tendencias a largo plazo. La aplicación de análisis genéticos en planes de conservación de las poblaciones naturales enfrenta el problema de que la variación en la mayoría de los marcadores, incluyendo el mtDNA, es el resultado de procesos históricos en términos relativamente largos, que son útiles para decisiones de largo plazo, pero que no reflejan la situación actual en los procesos que afectan la variabilidad genética y por tanto en la respuesta de una población ante medidas de conservación concretas (Moritz 1994b). Esta consideración es importante porque la interacción de la mayoría de las poblaciones naturales con el hombre es reciente con relación al plazo en que operan las fuerzas evolutivas y porque esta interacción se ha intensificado particularmente en los últimos 500 años como resultado del desarrollo del capitalismo y con él de la explotación comercial de los recursos naturales a escala mundial. Un problema relacionado es que la descripción de la variación genética se basa mucho en marcadores neutrales o cuasineutrales, como el mtDNA, y eso tampoco permite una evaluación adecuada de las posibilidades de respuesta de una población ante fenómenos de selección. En general, es posible que una población natural que sea o haya sido explotada, o que tenga alguna interacción de detrimento con el hombre, presente una reducción drástica en la variabilidad de loci sujetos a selección y que eso, no se refleje en loci neutrales debido a la distribución casi uniforme de las probabilidades de sobrevivencia de linajes diferentes, con los que se preserva la topología de la variación genética, aunque algunos linajes se extingan. Medidas de variación como la diversidad nucleotídica, que se usa comúnmente en el análisis del mtDNA, pueden subestimar la pérdida de variación genética. No obstante, la diversidad nucleotídica es un parámetro fuertemente afectado por cuellos de botella recientes y su examen resulta útil para inferir este fenómeno en la historia de una población (véase Tajima 1989a,b).

Una aproximación para evaluar diversidad genética con implicaciones directas en la respuesta adaptativa de una población, es la de el estudio del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Este es un conjunto de genes ligados que codifican para antígenos de las membranas celulares que regulan los procesos de inmunidad y las respuestas a antígenos externos. Los genes del MHC forman los grupos denominados I y II y ambos presentan un alto polimorfismo que antes se creía debido a una tasa mutacional elevada, pero que más bien se mantiene por selección balanceadora, habiéndose postulado asimismo, efectos de los sistemas de apareamiento. Este mecanismo de mantenimiento del polimorfismo, ocasiona que los linajes alélicos

persistan por periodos muy largos, incluso superiores a los tiempos entre eventos de especiación por lo que la filogenia de estos marcadores no tiene relación normalmente con la filogenia de los organismos. A este tipo de variación se le denomina por ese motivo polimorfismo transespecífico (Hughes y Nei 1989, Klein et al. 1993, Potts y Wakeland 1993, Takahata 1990, Takahata y Nei 1990).

Se ha interpretado que especies cuyas poblaciones han pasado por cuellos de botella severos y relativamente recientes, como el chita (*Acionyx jubatus*) y el león asiático (*Panthera leo persica*), presentan un polimorfismo pequeño del MHC. Este hecho hace a estas especies muy susceptibles a epizootias y otros riesgos que involucran respuestas inmunológicas, como intoxicaciones, lo que reclama especial cuidado para su protección (Yuhki y O'Brien 1990). El análisis del MHC asimismo resulta muy útil para programas de reproducción de especies en categorías de riesgo (Hughes 1991). En los mamíferos marinos estudiados hasta la fecha que incluyen un fócido, un otárido, un misticeto y un odontoceto, se ha observado que la variación del MHC es baja en comparación a otros mamíferos (Murray et al. 1995, Slade 1992, Trowsdale et al. 1989). Como este bajo polimorfismo no se asocia a la filogenia sino a la adaptación a la vida en el mar, se piensa que deriva de una menor exposición a patógenos en el medio marino (Slade 1992). Esto hace de los mamíferos marinos en general especies sujetas a eventos ocasionales de mortalidad masiva (Harwood y Hall 1990), que en algunos casos pueden significar reducciones drásticas de la diversidad genética, como se ha observado en las ballenas jorobadas (*Megaptera novaeangliae*, Baker et al. 1994).

En este trabajo se ha hecho un primer análisis de la variación genética en la región control del mtDNA y en el locus DQ $\beta$  del MHC II de los manatíes (*Trichechus manatus*) en dos localidades del sureste de México, para generar una noción sobre la estructura, historia y capacidad de respuesta inmunológica en las poblaciones de esta especie amenazada. La variación mitocondrial se ha comparado con los datos aún no publicados de García et al. (1996), confiados generosamente para ubicar los manatíes de México en la filogenia mitocondrial de la especie en toda su distribución geográfica. Aunque el tamaño de muestra es pequeño y algunos datos aguardan confirmarse, se han obtenido resultados cualitativos que indican que México es una región donde hay o ha habido flujo génico entre regiones apartadas de la distribución de la especie o de que nuestro país ha sido el centro de dispersión de estos animales y que, al menos en las localidades recolectadas, existe un grado de polimorfismo del MHC similar al de otros mamíferos. Estos pocos datos asimismo muestran que localidades definidas por discontinuidad hidrológica corresponden a unidades poblacionales naturales y dan evidencia de que la población de manatíes se ha reducido drásticamente y fragmentado, disminuyendo el flujo génico que mantiene la continuidad evolutiva de la especie.

## ANTECEDENTES

Análisis previos en la variación del mtDNA del género *Trichechus* han mostrado que existe poca variabilidad genética en este taxón y que en *T. manatus* hay una subdivisión de los linajes maternos en la que se agrupan las poblaciones de las Antillas Mayores y Florida en un grupo, las poblaciones de Colombia y Venezuela en otro y las de Brasil y Guyana en un tercero. Cada localidad parece constituir una unidad de manejo independiente (García *et al.* 1996, Parr *et al.* 1994). Esto sugiere que la distinción entre *T. manatus manatus* del Golfo de México y el Caribe y *T. manatus latirostris* de Florida, basada en la morfología del cráneo (Domning y Hayek 1986), es incorrecta y/o que ha habido introgresión entre los manatíes de diferentes áreas. García *et al.* (1996) asimismo han encontrado parafilia entre *T. manatus* y el manatí del río Amazonas (*Trichechus inunguis*) lo que deriva de la separación reciente (Domning 1982) y/o de la hibridación entre ambas especies.

A nivel regional, un estudio de la variación de isoenzimas en Florida mostró que si bien existe poca diferenciación genética en estos marcadores entre las agregaciones invernales de los manatíes, se observan evidencias de segregación y/o endogamia definidas a través del efecto Wahlund (McClenaghan y O'Shea 1988). Esto refuerza la noción de que localidades hidrológicamente definidas pueden corresponder a poblaciones, subpoblaciones o unidades naturales de manejo. Es necesario para tal identificación estudiar la hidrología histórica de las zonas de distribución de los manatíes y analizar sus patrones de movimiento con énfasis en los hábitos de filopatría, como la investigación anexa de radiomarcaje, para explicar cómo tales hábitos pueden conformar la estructura de las poblaciones.

Como las costas de México en el Golfo y el Caribe representan los límites entre las subespecies de *T. manatus* y entre los principales clados mitocondriales reconocidos, el análisis de la variación genética mitocondrial de los manatíes en México es importante para determinar la estructura e historia reciente de la especie. También importa definir preliminarmente si en nuestro país localidades geográficas con poca o ninguna relación hidrológica corresponden a unidades de manejo separadas. Esta variación debe contrastarse con la de un marcador nuclear para determinar una visión conjunta de la diferenciación poblacional y analizar el posible papel de la dispersión diferencial de sexos en ella. Un marcador nuclear sujeto a selección además brinda una noción de la capacidad de respuesta adaptativa *sensu lato* de las poblaciones en estudio ante fenómenos de selección. El locus DQ $\beta$  resulta útil para este fin porque codifica una región de unión a péptidos en las cadenas 13 de las glicoproteínas MHC II y presenta un grado alto de variación alélica en la mayoría de los mamíferos estudiados (Hughes y Nei 1989).

## **OBJETIVOS**

- Desarrollar un análisis prospectivo de la variación geográfica del mtDNA y el locus DQ $\beta$  del manatí en la laguna de Catazajá, Chiapas y la bahía de Chetumal, Quintana Roo para identificar si este tipo de unidades geográficas corresponde a unidades poblacionales naturales.

- Desarrollar un primer análisis de neutralidad y de coalescencia en el mtDNA de los manatíes para determinar la antigüedad de los linajes existentes en México, el tamaño poblacional efectivo a largo plazo así como la ocurrencia de cuellos de botella y fragmentación poblacional.

- Contrastar la variación del mtDNA con la del locus DQ $\beta$  para examinar el posible papel de la dispersión diferencial de sexos en la subdivisión poblacional y tener una primera evaluación de la capacidad de respuesta inmunológica actual en la población de los manatíes comparada con otros mamíferos.

## **DESARROLLO DEL PROYECTO**

Este trabajo ha resultado de una iniciativa de B. Morales quien a fines de 1995 solicitó la colaboración de L. Medrano para analizar la variación genética de los manatíes en México. Ya que existe un proyecto sobre la genética poblacional del manatí que desarrolla A. García con la asesoría de Brian Bowen en Florida, se decidió sumar el esfuerzo de este proyecto al del grupo de Florida para aprovechar su desarrollo técnico e información acumulada. En un plan original se pensaba enviar durante 1996 a Florida a un miembro de este proyecto para analizar el material recolectado. Dentro de la Universidad Nacional Autónoma de México no fue posible disponer adecuadamente de las facilidades de un laboratorio de análisis moleculares por motivos diversos y la comunicación con el grupo de Florida asimismo estuvo sujeta a muchas dilaciones que entorpecieron la marcha del trabajo. B. Morales hizo la visita a Florida a fines de julio de 1997 y a partir de ese momento se pudo secuenciar un fragmento del mtDNA con la asistencia de A. García y costos sufragados por el presente proyecto. Con la estancia posdoctoral de L. Medrano durante 1997 en el laboratorio de C. Scott Baker en la Universidad de Auckland, Nueva Zelanda surgió la posibilidad de analizar adicionalmente la variación en el complejo mayor de histocompatibilidad y eso implicó trabajar en la implementación de protocolos para el estudio de hélices heterólogas y de polimorfismos de conformación de cadena sencilla que no existían en este laboratorio y que eran de su interés. Estas investigaciones concluyeron a fines de agosto de 1997 con la ayuda de R. Robles y sin gastos ocasionados al proyecto presente. Toda la información genética se integró y procesó en la Universidad de Auckland.

Durante 1996, además de la recolecta de tejidos frescos que se reporta aquí, desarrollada por el grupo que dirige B. Morales, se obtuvieron fragmentos de hueso de

varias colecciones que se analizarán en el futuro. Esos materiales incluyen restos actuales de manatíes de Quintana Roo, Yucatán, Tabasco y Veracruz así como dos restos arqueológicos de Quintana Roo asociados a entierros mayas del postclásico. La sola extracción de DNA de materiales óseos no frescos representa un trabajo de investigación técnica muy extenso que no podía cubrirse en este trabajo por lo que este reporte se refiere solamente a los tejidos de piel y sangre recolectados ex profeso para análisis genéticos.

## METODOS

**Recolecta de tejidos.** Asociado a los esfuerzos de radiomarcaje en la bahía de Chetumal, Quintana Roo y de rescates en la laguna de Catazajá, Chiapas, se obtuvieron 17 muestras de tejidos de manatíes entre 1994 y 1997. Tres muestras consisten de fragmentos de 1-2 g de piel queratinizada preservada en solución salina saturada (EDTA 250 mmol/L, dimetil,sulfóxido 20%, pH=7.5) y el resto a 1 mL de sangre preservado en 9 mL de solución lítica (NaCl 10 mmol/L, tris-HCl 100 mmol/L, EDTA 100 mmol/L, dodecil,sulfato de sodio 1%, pH=8.0). Se registraron el sexo y longitud de los animales así como la relación de maternidad si esta inferencia era confiable (cuadro 2.1).

**Extracción de DNA.** Por medio de la extracción con fenol y cloroformo (Sambrook *et al.* 1989), se obtuvo DNA de todo el genoma de la siguiente manera. A 1 mL de sangre se le agregaron 1.7 mL de solución RSB (NaCl 10 mmol/L, tris-HCl 10 mmol/L, EDTA 25 mmol/L, pH=7.4), 100  $\mu$ L de proteinasa K (20 mg/mL) y 200  $\mu$ L de dodecil, sulfato de sodio (10%). 1-2 g de piel se cortaron en trozos pequeños y se agregaron a una mezcla de 1 mL de RSB, 70  $\mu$ L de proteinasa K y 200  $\mu$ L de SDS. Las mezclas se incubaron en rotación por 5 hrs a 55°C. Se hicieron dos extracciones con fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (24:24:1) incubando en cada ocasión un volumen igual al de la solución de digestión por 20 min en rotación y centrifugando por 20 min a 100,000  $\text{cm/s}^2$ . Se hizo una tercera extracción en una mezcla de cloroformo/alcohol isamílico (24:1) de la misma forma y el DNA se precipitó agregando 0.5 del volumen del extracto con acetato de amonio 7.5 mol/L y 2.5 veces el volumen de la solución resultante con etanol 95% mantenido a -20°C. El DNA se dejó precipitar por una noche a -20°C, se centrifugó 10 min a 50,000  $\text{cm/s}^2$ , se decantó, se hizo un lavado con etanol 70%, centrifugando de la misma forma y se decantó. El DNA se dejó secar por 2 hrs y, según la cantidad de precipitado visible, se agregó un volumen de TE (tris-HCl 10 mmol/L, EDTA 1 mmol/L, pH=7.4) variable entre 100 y 500  $\mu$ L. El DNA se resuspendió en el TE incubando a 55°C por 2 hrs. La concentración de los extractos se determinó por medio de fluorometría y de electroforesis en agarosa 1.6% tñiendo con bromuro de etidio y comparando la brillantez de las bandas contra un marcador de peso molecular con bandas de concentración variable y conocida (Sambrook *et al.* 1989). Los extractos tuvieron concentraciones de DNA de entre menos de 1 ng/ $\mu$ L (muestras de piel) y 1-7 ng/ $\mu$ L (muestras de sangre).

En general, los geles de electroforesis se tiñieron sumergiéndolos en una solución de bromuro de etidio (0.5 mg/μL) por 10-15 min y enjuagándolos con agua destilada. Los geles se observaron en un transiluminador de luz ultravioleta acoplado a un procesador de imágenes con el que se generaron archivos de computadora PC-DOS e impresiones en papel para documentación.

**Secuenciación de mtDNA.** Una parte de cada muestra se envió al servicio de secuenciación de la Universidad de Florida donde se extrajo DNA y se amplificó por la reacción de polimerización en cadena (PCR) un fragmento de aproximadamente 500 pb en la región 5' de la cadena pesada de la región control. Este fragmento se secuenció por el método de Sanger et al. (1977) siguiendo los procedimientos usados por García et al. (1996). Para ubicar las secuencias de los manatíes de México en la filogenia mitocondrial de la especie, A. García proporcionó las secuencias de los haplotipos que ella ha identificado del manatí del Río Amazonas (*Trichechus inunguis*) y del manatí caribeño (*T. manatus*) en Brasil, Guyana, Venezuela, Colombia, Puerto Rico, República Dominicana y Florida. Esta información, que no ha sido generada por el presente proyecto, está en preparación para publicarse y es por lo tanto confidencial.

**Amplificación del locus DQβ** Un fragmento de aproximadamente 200 pb en la región de unión a péptidos del locus DQβ se amplificó por medio de PCR como sigue. 5-20 ng de DNA se agregaron a 50 μL de una mezcla estándar de PCR (Palumbi *et al.* 1991) conteniendo la polimerasa *Taq* (0.02 U/μL), MgCl<sub>2</sub> (1.5 mmol/L) y los primers del locus DQβ (0.4 pmol/μL) descritos por Murray *et al.* (1995). Las mezclas se sometieron al perfil de tiempos y temperaturas siguiente: [94°C 120s, 1X], [92°C 30s, 48°C 30s, 72°C 30s, 40X]. El producto de la reacción se visualizó por electroforesis en geles de agarosa 1.6% teñidos con bromuro de etidio. Por su bajo contenido de DNA, algunos extractos se concentraron por evaporación entre cinco y 20 veces para incorporarlos a la reacción. El rendimiento de la amplificación por lo tanto varió entre los extractos.

**Identificación de alelos del locus DQβ.** Los alelos de los productos de amplificación del locus DQβ se identificaron como polimorfismos de conformación de cadena sencilla (SSCP) siguiendo los lineamientos generales descritos por Lessa y Applebaum (1993). La probabilidad de identificar alelos diferentes por un nucleótido en el producto amplificado de aproximadamente 200 pb es del 99% con este método (Hayashi 1991, Lessa y Applebaum 1993). A 20 μL del producto de PCR se agregaron 20 μL de formamida 95% con azul de bromofenol (0.05%), cianol de xileno (0.05%) y EDTA 20 mmol/L. La mezcla se incubó a 95°C por 5 min y se puso en hielo inmediatamente antes de incorporarse en un gel con 16 cm de corrimiento de acrilamida/bis-acrilamida (37.5:1) 8% y glicerol 10% en solución TBE 0.5X (borato de tris 45 mmol/L, EDTA 1 mmol/L, pH=8.0, Sambrook *et al.* 1989). Las electroforesis se corrieron a 180 V por 9.0-9.5 hrs manteniendo la temperatura constante (20-22°C) por medio de un enfriador de agua corriente y los geles se tiñieron con bromuro de etidio. En dependencia del éxito en la amplificación, las muestras se analizaron de una a tres veces para determinar la reproducibilidad de los resultados y valorar el efecto posible de mutaciones durante el proceso de PCR.

**Secuenciación del locus DQ $\beta$ .** El producto amplificado del locus DQ $\beta$  de un individuo heterocigoto (MCH-004, genotipo 0304) se purificó pasando el producto de PCR en columnas de sefacril por centrifugación por 2 min a 20,000 cm/s<sup>2</sup>. La concentración del producto purificado se determinó por electroforesis en geles de agarosa 1.6% teñidos con bromuro de etidio y usando el marcador de peso molecular con bandas de concentración variable y conocida. 60 ng del producto de PCR y uno de los primeros usados para la amplificación se enviaron al servicio de secuenciación automatizada de la Universidad de Auckland donde la secuencia se determinó por el método de Sanger *et al.* (1977). El número de residuos indeterminados se consideró como un estimador del número máximo de diferencias nucleotídicas entre los alelos.

**Procesamiento de datos.** Las secuencias se alinearon, y tradujeron a aminoácidos en el caso del locus DQ $\beta$ , utilizando el paquete GCG de la Universidad de Wisconsin disponible en la red de cómputo (Genetics Computer Group 1996). Se obtuvo un cladograma de las secuencias de mtDNA por el método de parsimonia haciendo una búsqueda exhaustiva con el programa PAUP V.3.1.1 (Swofford 1993).

La diferenciación geográfica se analizó con el índice  $\theta$  (equivalente a  $F_{st}$ ) de Weir y Cockerham (1984) y la prueba exacta de Raymond y Rousset (1995a). El parámetro Nm (número de migrantes por generación) se estimó con el método de alelos privados de Barton y Slatkin (1986). El equilibrio Hardy-Weinberg en el locus DQ $\beta$  se examinó mediante la prueba exacta de Louis y Dempster (1987). Todos estos procedimientos se hicieron con el programa GENEPOP V.1.2 de Raymond y Rousset (1995b). El error de tipo II ( $\beta$ ) se estimó por el método de Dizon *et al.* (1994) usando una distribución alternativa aleatoria del parámetro  $G_{st}$ . Los valores de diversidad génica ( $H$ ) y nucleotídica ( $\pi$ ) y el índice de diferenciación  $G_{st}$  se determinaron a partir de las definiciones de Nei (1987) corregidas para tamaño de muestra. Estos cálculos se hicieron con programas desarrollados por Medrano-González *et al.* (1995).

La neutralidad de la variación mitocondrial se probó con el análisis de Tajima (1989b) empleando un programa desarrollado por L. Medrano. Al demostrar dicha neutralidad, se hizo un análisis preliminar de la distribución de tiempos de coalescencia de los clados encontrados en los manatíes de México siguiendo el procedimiento de Avise *et al.* (1988). El tiempo generacional se consideró como la edad de madurez sexual de las hembras que es de aproximadamente seis años (Reeves *et al.* 1992). Aunque no está formalmente medida en los trichéidos, se asumió una tasa de sustitución nucleotídica de 0.01/10<sup>6</sup> años, igual a la de los misticetos, a partir de su dependencia de la tasa metabólica relativa (Martin y Palumbi 1993) y la similitud de ésta última entre el manatí y los misticetos (Whittow 1987).



## RESULTADOS Y DISCUSION

Debido al desconocimiento de la estructura filogeográfica original de *T. manatus*, el término población se usa indistintamente para indicar los manatíes de una región determinada o el conjunto de manatíes en toda su distribución geográfica. Se recolectaron 17 muestras de tejidos en la laguna de Catazajá, Chiapas y la bahía de Chetumal, Quintana Roo de las cuales tres corresponden a fragmentos de piel queratinizada de los que no pudo obtenerse DNA en cantidad y calidad suficiente para analizarse a pesar de distintos procesos de extracción, concentración y purificación. El manatí MQR-003 (Rodrigo) es cría de la hembra TQR-001 (Carmen) y por lo tanto se eliminó del exámen de variación del mtDNA. Del manatí TQR-003 no fue posible amplificar el mtDNA y de los manatíes MCH-003 y TQR-006 no fue posible amplificar el locus DQ $\beta$ . Estas circunstancias dejaron un tamaño de muestra de 4-5 individuos en Catazajá y de 7-8 individuos en Chetumal según el marcador genético en cuestión manteniéndose constante el tamaño total de muestra en 12 (cuadro 2.1).

### Variación del mtDNA

En 12 manatíes de México se encontraron tres haplotipos mitocondriales que corresponden, usando la nomenclatura de García et al. (1996), al tipo J que se encuentra en Venezuela y Colombia, el haplotipo A que se ha encontrado en Florida, Puerto Rico y República Dominicana y un haplotipo no descrito previamente hermano al cúmulo A,B (Y). A y Y difieren por un residuo en una secuencia de 390 pb (0.26%) y ambos difieren de J por 26 a 27 posiciones (6.67-6.92%, figura 2.1, cuadro 2.1). La diversidad nucleotídica global en estos 12 animales es  $\pi=1.65\%$  y la diversidad génica es  $H_t=0.58$ . Aunque estos valores son normales en comparación a otros mamíferos, debe notarse que los manatíes de Chiapas no muestran polimorfismo y que el valor de  $\pi$  obedece a la combinación de pocos haplotipos con divergencias nucleotídicas relativamente altas como se demuestra en el análisis de coalescencia descrito adelante (figura 2.3).

B AATTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTAATTCGTGCATTATGT [50]  
A ..... [32]  
Y ..... [37]  
I ..... [32]  
J ..... [50]  
M ..... [50]  
P ..... C.. [50]  
*T. inunguis* ..... C.. [50]  
*C. simum* CT.AAAC.AC...GC..C.T.ACATGTAAC.CACC.G.AT.AACA.CAC. [50]

B GTTCTTCCCCATATAGTACTATCTATGTTTAACTTACATACAC-CATCC [99]  
A ..... [81]  
Y ..... [86]  
I ..... C..C ..... T ..... [81]  
J ..... C..C ..... T ..... [99]  
M ..... T ..... [99]  
P ..... C..C ..... G ..... [99]  
*T. inunguis* ..... C..C ..... G ..... [99]  
*C. simum* ..... T.C...G ..... C.AT.C.A.C.G..CT.GCC.CG ..... AGT..ATC ..... G [100]

B TATGTATA-ATCGTACATTACACTACATACCCCATGCTTATAAGCAAGTA [148]  
A ..... [130]  
Y ..... [135]  
I ..... T..T ..... C ..... [130]  
J ..... T..T ..... C ..... [148]  
M ..... T ..... [148]  
P ..... T ..... G ..... [148]  
*T. inunguis* ..... T ..... G ..... [148]  
*C. simum* ...GG.A.G.C..... G..... T.GTT ..... A ..... T ..... [150]

B CAGTATG--AGTAATGCTCC--TAGACAGTATATACCT--TCCACTGCAG [192]  
A ..... [174]  
Y ..... [179]  
I ..... A--A ..... T ..... A [174]  
J ..... A--A ..... T ..... A [192]  
M ..... A-GAC ..... A [192]  
P ..... CA-- ..... C ..... A ..... T.A [192]  
*T. inunguis* ..... CA-- ..... C ..... A ..... T.A [192]  
*C. simum*.....T...ATT.T...AT.A.ATA.C...T.A.TAT.GA..G.GCAT.A [200]

B ATTCCCAAC-----CACATGGATATTC- TTCAGTCCATTTCCTTGATA [237]  
A ..... [219]  
Y ..... [224]  
I ..... T..... CCT ..... A..... [219]  
J ..... CCT ..... A..... [237]  
M ..... C..... 0 ..... T.0 ..... A..... [237]  
P ..... A ..... T.0 ..... [237]  
*T. inunguis* ..... T.0 ..... [237]  
*C. simum*.CA.....ACAGT ..... C.A.ATCC.AA.GC.TACTG ..... C [250]

B	TTGCATAGCACATTATGCTCCTTAATCGTACATAGCACAT-TACTTGAAA	[286]
A	.....C.....	[268]
Y	.....C.....	[273]
I	.....AT.....CA.....-C.....	[268]
J	.....AT.....CA.....-C.....	[286]
M	.....T.....-C.....	[286]
P	.....C.CA.CT.....C.....-C.....	[286]
<i>T. inunguis</i>	.....C.CA.CT.....C.....-C.....	[286]
<i>C. simum</i>	.....AT.....CTA.TA..G...G.....C.C.....CC.AG.C.....	[299]
B	TCA-TCCTCGTCAACATGCTTATCACCTCCATTAGGCAGTC-CTTGATCA	[334]
A	.....	[316]
Y	.....	[321]
I	.....T...0.....C.A.CT.	[316]
J	.....T...0.....C.A.CT.	[334]
M	.....T..T.0.....CT.	[334]
P	.....T.....	[334]
<i>T. inunguis</i>	.....T.....	[334]
<i>C. simum</i>	.....T.T.CA.....G.....A..A..TT.C.G.G..A.....	[349]
B	CCAAGCGCCGAGAAACCAGCAACCCGCCCTCATCTTGTCCCTCTTCTCGC	[384]
A	.....	[366]
Y	.....T.....	[371]
I	.....T.....	[366]
J	.....T.....	[384]
M	.....T.....	[384]
P	.....T.....	[384]
<i>T. inunguis</i>	.....T.....	[384]
<i>C. simum</i>	.....CG..G...T..T..TT..A.T.AA..CA.TCG.....	[399]
B	TCCGGGCCCATAACTTGTGGGGTGT	[410]
A	.....	[392]
Y	.....	[397]
I	.....	[392]
J	.....	[410]
M	.....	[410]
P	.....	[410]
<i>T. inunguis</i>	.....	[410]
<i>C. simum</i>	.....A.....T.	[425]

Figura 2.1. Secuencias de la porción 5' de la cadena pesada en la región control del mtDNA del manatí caribeño con haplotipos de los principales dados encontrados por García *et al.* (1996) y un haplotipo nuevo encontrado en manatíes de Chetumal (Y). Se incluyen secuencias del manatí del Río Amazonas y del rinoceronte blanco. Los puntos indican identidad con la secuencia de referencia (tipo B) y se señalan los nucleótidos variables.

Cuadro 2.1. Tejidos analizados para este reporte y su identidad de haplotipos mitocondriales y genotipos del locus DQ $\beta$ . Los números entre paréntesis indican el número de repeticiones de esta última determinación.

Individuo	Alias	Fecha de recolecta	Tejido	Longitud (cm)	Sexo	Comentarios	Haplotipo mtDNA	Genotipo DQ $\beta$
<b>Catazajá, Chis.</b>		<b>Rescate</b>						
MCH-001	-	01/06/95	Piel	180	H		-	-
MCH-002	-	01/08/95	Sangre	215	H		J	0304(2)
MCH-003	-	02/06/95	Sangre	197	M		-	-
MCH-004	-	02/06/95	Sangre	214	M		J	0304(2)
MCH-005	-	02/06/95	Sangre	211	H		J	0102(2)
MCH-006	-	02/06/05	Piel	266	H		J	-
MCH-009	-	03/06/95	Sangre	265	H		J	0101(1)
TmrCh10		03/06/95	Piel	260	M		-	-
<b>Chetumal, QR</b>		<b>Radiomarcaje</b>						
TQR-001	Carmen	10/10/96	Sangre	290	H		Y	0103(3)
TQR-002	Gabriela	17/11/94	Sangre	301	H		J	0101(2)
TQR-003	Santiago	02/10/96	Sangre	285	M		-	0101(2)
TQR-004	Nikita	02/10/96	Sangre	276	H		A	0101(2)
TQR-005	Cecilia	05/10/96	Sangre	285	H		A	0101(2)
TQR-006	Janneth	17/05/97	Sangre	280	H		Y	-
MQR-001	Daniel	03/10/96	Sangre	274	M		J	0101(1)
MQR-002	Bertha	05/10/96	Sangre	273	H		Y	0102(3)
MQR-003	Rodrigo	10/10/96	Sangre	179	M	Cría de TQR-001	Y	0101(1)

Se hizo una búsqueda exhaustiva del cladograma más parsimonioso en un conjunto de nueve secuencias que incluyen tipos de los principales clados descritos por García *et al.* (1996), el haplotipo nuevo encontrado en manatíes de Chetumal, un manatí del Río Amazonas (*Trichechus inunguis*, García *et al.* 1996) y un rinoceronte blanco (*Ceratotherium simum*, Xu y Arnason 1997) obtenido de la base de datos GenBank que se usó como grupo externo. Se obtuvieron dos árboles igualmente parsimoniosos de longitud 195 e índice de consistencia CI=0.76 de entre 135,135 árboles examinados con longitud promedio de 240. Se calculó un cladograma consenso por la regla de mayoría al 50% que muestra identidad completa de los manatíes de Chiapas con los de Centroamérica e indica que en Quintana Roo el clado centroamericano coexiste con el de Florida y las Antillas Mayores (figura 2.2). Este resultado indica que en México hay flujo génico entre grupos alejados en la distribución de la especie y/o que México ha sido el centro de dispersión de estos animales.

La comparación entre Catazajá y Chetumal dio un índice de diferenciación de  $\theta=0.43$ , un error de tipo I  $\alpha=0.12$  que no puede considerarse estadísticamente significativo y un error de tipo II  $\beta=0.48$  que tampoco permite aceptar la hipótesis nula (cuadro 2.2). Por lo tanto, la muestra examinada hasta el momento no permite una

capacidad estadística ( $1-\alpha$  ó  $1-\beta$ ) suficiente para distinguir entre las hipótesis de identidad y de diferenciación poblacionales. Como el valor de  $\alpha$  es marginal y puede esperarse que disminuya al incrementar el número de datos y también porque es más cauteloso para decisiones de manejo, los manatíes de ambas localidades pueden considerarse como unidades poblacionales separada

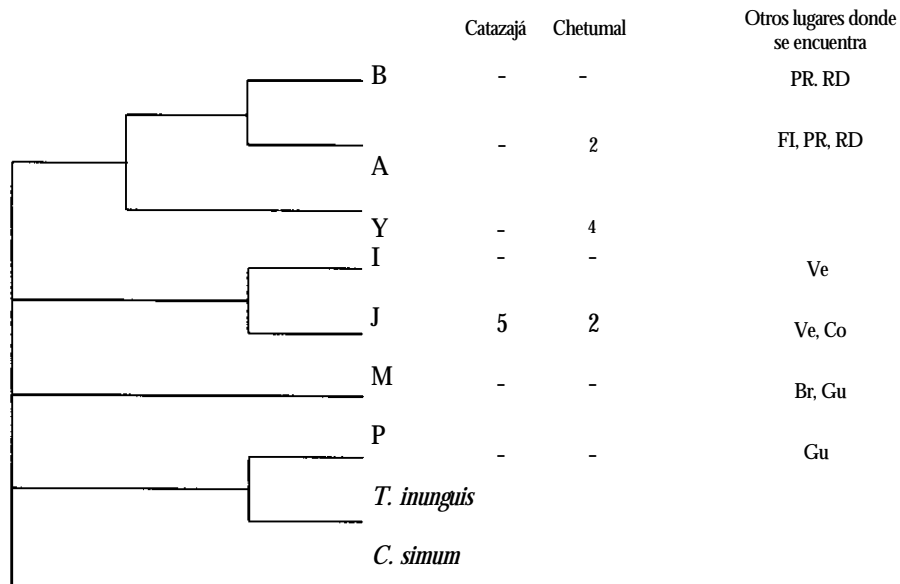


Figura 2.2. Arreglo topológico consenso por parsimonia de las secuencias de la figura 2.1., su abundancia en Catzajá y Chetumal y su identidad con manatíes de otras regiones de acuerdo a García *et al.* (1996). FI: Florida, PR: Puerto Rico, RD: República Dominicana, Ve: Venezuela, Co: Colombia, Br: Brasil, Gu: Guyana.

Se hizo un análisis de neutralidad de la variación encontrada (Tajima 1989a,b) para probar la validez del análisis de coalescencia que sigue y para determinar la posible existencia de cuellos de botella recientes. Brevemente, este análisis se basa en la concordancia del parámetro  $4N\mu$  calculado a partir del número de sitios polimórficos (S) y a partir del número promedio de diferencias nucleotídicas (k) con los cuales se determina el estadístico D como sigue:

$$D = [k - (S/a_1)] / [e_1S + e_2S(S-1)]^{1/2} \quad (1)$$

donde  $a_1$ ,  $e_1$  y  $e_2$  son parámetros de S, k y el tamaño de muestra (n). En condiciones idealmente neutrales  $D=0$  pero puede haber ligeras desviaciones cuya significancia estadística se determina comparando el valor de D con el cuadro de probabilidades que aparece en Tajima (1989b) basado en simulaciones ajustadas a una distribución beta. Valores de  $D < 0$  implican una reducción en el número de diferencias nucleotídicas y son indicativos de cuellos de botella recientes de acuerdo con Tajima (1989a). Para los 12 manatíes de Catzajá y Chetumal:  $k=6.43$ ,  $S=28$ ,  $D=-1.38$ ,  $p > 0.1$ . Para los siete individuos de Chetumal:  $k=10.97$ ,  $S=28$ ,  $D=-0.23$ ,  $p > 0.1$ .

Al demostrar la validez de la hipótesis neutral en la variación encontrada, se examinó la distribución de tiempos de coalescencia ( $P(t)$ ) para ajustarla a la siguiente función descrita por Avise *et al.* (1988):

$$P(t) = (1 - 1/N_e)^{t-1} \quad (2)$$

donde  $t$  es el tiempo en generaciones durante el cual dos linajes han estado separados y  $N_e$  el número efectivo de hembras a largo plazo. Se asumieron un tiempo generacional de seis años y una tasa de sustitución nucleotídica de  $0.01/10^6$  años. Como la variación en los manatíes de México comprende procesos de divergencia que han ocurrido en toda su distribución geográfica, el valor de  $N_e$  ajustado es un estimador muy grosero para toda la especie. Las distribuciones de los tiempos de coalescencia de los 12 manatíes de Catazajá y Chetumal en conjunto y de los siete manatíes de Chetumal no muestran una curva monótonica decadente como predice la ecuación (2) y por eso no puede ajustarse un valor de  $N_e$  (figura 2.3). Este resultado se debe a los siguientes factores en orden de importancia: 1) Los manatíes de México constituyen alguna forma de entidad poblacional que refleja la variación mitocondrial de toda la especie y no se ha considerado toda la variación presente en ella. El tamaño de muestra es asimismo muy pequeño para este análisis; 2) La población total de manatíes está considerablemente fraccionada por lo que no se cumple el supuesto de continuidad en el flujo génico del que parte la ecuación (2). Como resultado, existe un pico de frecuencia en tiempos de coalescencia altos que representa la comparación entre individuos de poblaciones o subpoblaciones que han estado aisladas por periodos largos; 3) Hay un cuello de botella, como sugiere el análisis de neutralidad ( $D < 0$ ), que ocasionó una pérdida de variabilidad genética reciente que afecta de los modos indicados en 1) y 2).

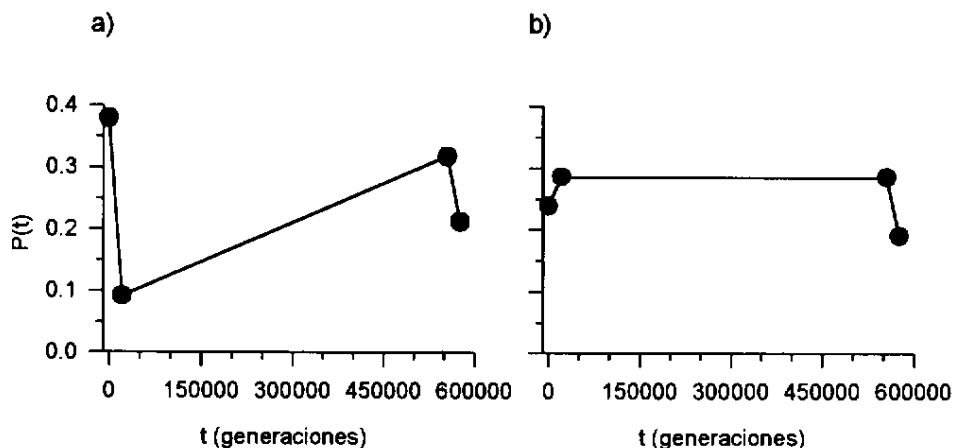


Figura 2.3. a) Distribución de los tiempos de coalescencia en el mtDNA de 12 manatíes de Catazajá y Chetumal. El tiempo de coalescencia promedio es  $t_c=299,558$  generaciones. b) Gráfica correspondiente para siete manatíes de Chetumal.  $t_c=273,413$  generaciones.

El tiempo de coalescencia promedio ( $t_c=273,413 - 299,558$  generaciones) indica una antigüedad de los principales clados de los manatíes cercana a los 50,000 que coincide con el periodo entre las glaciaciones Wisconsin temprana y tardía (Fairbridge 1960). Esto sugiere un proceso de expansión en la distribución de los manatíes dependiente de temperaturas tibias de los cuerpos de agua como se observa actualmente en los movimientos estacionales de estos animales (Irvine 1983, Reeves *et al.* 1992). Complementariamente, esta expansión asimismo pudo depender de una elevación en el nivel del mar (Fairbridge 1960) con la que se inundaron más áreas continentales formando sitios adecuados para los manatíes. El tiempo de coalescencia promedio de ajustarse a la ecuación (2) también indicaría un valor de  $N_f$  en los órdenes  $10^5-10^6$  individuos que concretaría la noción de la abundancia original de varios miles de individuos (Hartman 1974, Reeves *et al.* 1992).

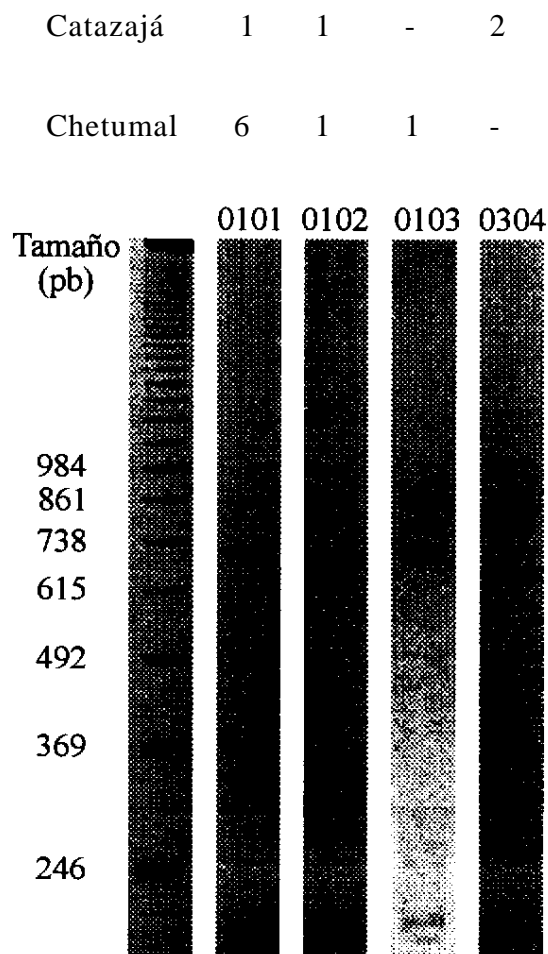


Figura 2.4. Identidad y abundancia de genotipos del locus  $DQ\beta$  de 12 manatíes de México determinados como polimorfismos de cadena sencilla. Las imágenes digitalizadas de los geles teñidos con bromuro de etidio fueron invertidas en tonalidades, se contrastaron y se ajustaron a una brillantez uniforme para obtener la mejor visualización posible de las bandas. Debido a la distinta proporción señal/ruido en un mismo gel, se obtuvieron de cada uno dos imágenes con distinto grado de iluminación. La figura anexa corresponde a las mejores imágenes obtenidas en dos electroforesis. Abajo se observa el producto amplificado original de aproximadamente 200 pb y la doble hélice heteróloga formada por los alelos distintos en los genotipos heterocigos.

## Variación del locus DQ $\beta$

Se identificaron cuatro alelos formando los genotipos que se describen como 0101, 0102, 0103 y 0304 (figura 2.4). Estas identificaciones se hicieron de una a tres veces para determinar su reproducibilidad. En el manatí TQR-002 en un caso de entre tres amplificaciones se obtuvo un genotipo inconsistente. Esto resulta probablemente de mutaciones durante el PCR y obliga a tener cautela en la interpretación de datos con una técnica de identificación de alelos muy sensible a errores de amplificación, de uso nuevo para los autores y con una muestra tan pequeña como la empleada.

La secuencia de un individuo heterocigoto con el genotipo 0304 (MCH-004) muestra una proporción de residuos indeterminados del 9.3% en el fragmento secuenciado de 205 pb que equivale al máximo valor de divergencia entre estos dos alelos (figura 2.5a). Experimentos, no mostrados aquí, con fragmentos de mtDNA de secuencia conocida y aproximadamente 500 pb indicaron que el umbral de divergencia nucleotídica para detección de cadenas heterólogas era superior al 3% en nuestras condiciones particulares. Este es el umbral que se observa en los experimentos de Delwart *et al.* (1993) con productos de aproximadamente 700 pb. La separación entre hélices heterólogas y homólogas fue muy pequeña en nuestros geles para estimar con ella el grado de divergencia nucleotídica entre los alelos (figura 2.4). Este nivel de divergencia nucleotídica intraespecífica (3-9%) es similar al que se observa en la beluga (*Delphinapterus leucas*, Murray *et al.* 1995) con cuya secuencia *T. manatus* difiere en 18.8% de 149 residuos comparables (figura 2.5a).

Ambas especies comparten un ancestro común con una antigüedad superior a 60 millones de años (véase Barnes *et al.* 1985) y la poca diferencia entre la divergencia interordinal (~19%) y la intraespecífica (3-9%) puede explicarse por la permanencia prolongada de linajes alélicos mantenidos por selección (Hughes y Nei 1989, Klein *et al.* 1993, Takahata y Nei 1990). Esta pequeña divergencia nucleotídica, sin embargo, no implica necesariamente una función inmunológica similar; las secuencias de ambas especies presentan distintos marcos de lectura abierta que hacen a las secuencias de péptidos resultantes muy diferentes y de hecho no alineables (figura 2.5b).

La beluga, como el manatí, es una especie que vive en las desembocaduras de los ríos formando agregaciones poblacionales relativamente discretas, ha sido explotada en el pasado, su hábitat se ha deteriorado y fragmentado y se encuentra en una categoría de riesgo (Leatherwood y Reeves 1983). Ambas especies muestran un grado de heterocigosidad en el locus DQ $\beta$  similar con  $H=0.42$  en el manatí (cuadro 2.2) y  $H=0.35$  en la beluga (Murray *et al.* 1995). Este nivel es comparable e incluso superior al de otros mamíferos de acuerdo a los datos de Yuhki y O'Brien (1990). En la beluga, sin embargo, el número de alelos es pequeño como en otros mamíferos marinos (cinco alelos en 233 individuos de casi toda su distribución geográfica).



a)

*D. leucas* 0101 CACGGAGCGGGTGC GGCTCGTGAGCAGATACATCTATAACCGGGAGGAGT  
[ 50 ]

*T. manatus* Cho -----T.AC . . . . . ? . - . TA..T.C . . . . . -A  
[ 42 ]

*D. leucas* 0101 TAGTGCACTTCGACAGCGACGTGGGCGAGTACCGGGCGGTGACCGAGCTG  
[ 100 ]

*T. manatus* Ch04 AC.C..G . . . . . ? . . . . . G?..?.GT....C...??CC....  
[ 92 ]

*D. leucas* 0101 GGCCGGCCGGACGCCGAGTACTGGAACAGCCAG- -AAGGACATCCTGGAG  
[ 148 ]

*T. manatus* Ch04 ..G . . . . . ? . . . . . ?..?.CA?G....C . . . . . ?  
[ 142 ]

*D. leucas* 0101 CGGACACGGGCCGAGCTGGACACG . . . . .  
[ 172 ]

*T. manatus* Cho- GA.?AT..... T.TG ..... GTGTGCAAACACAACACTACCAGACCCT  
[ 192 ]

*D. leucas* 0101 -----[172]

*T. manatus* Cho4 T??C?C?T??ATT [ 205 ]

b)

***D. leucas* 0101.**

TERVRLVSRYYIYNREELVHFDSDVGEYRAVTELGRPDAEYWNSQKDILERTRAELDT

***T. manatus* Ch04.**

DGA?VYIHSITGRKRALRQ?RG??RGA??AGAAGR?VLE?PA?DLL?E?RAYVDTVCKHNYQTL?  
??I

Figura 2.5. a) Secuencias alineadas de un alelo del locus DQ $\beta$  clonado de la beluga y de un manatí heterócigo de Chiapas (MCH-004, Ch04 en la figura, genotipo 0304). Los puntos muestran identidades con la secuencia de referencia, se señalan los residuos diferentes y los signos de interrogación corresponden a los nucleótidos no determinados que indican el número máximo de diferencias alélicas (9%). b) Mismas secuencias traducidas a aminoácidos de acuerdo al marco único de lectura abierta. En esta forma, las secuencias no son alineables.

En el manatí nuestro tamaño de muestra de nuevo resulta restrictivo para determinar el número de alelos pero haber hallado cuatro alelos en 12 individuos de dos localidades cercanas que manifiestan un pequeño efecto Wahlund, como se indica adelante, sugiere que el número de alelos puede ser mayor. Si efectivamente la variación del locus DQ $\beta$  en el manatí es tan alta como muestra este trabajo inicial, podría interpretarse que especies que viven en los ríos o sus desembocaduras de regiones tropicales, al estar más expuestas a patógenos que las especies pelágicas, presentan un grado de polimorfismo relativamente mayor.

La prueba de Louis y Dempster (1987) indicó la existencia de equilibrio Hardy-Weinberg en ambas localidades por separado con  $p=0.31$  y  $p=1$  para Catazajá y Chetumal respectivamente. En la prueba para ambos sitios en conjunto se observa una ligera deficiencia de heterocigotos (cinco heterocigotos observados de 5.86 esperados) que es marginalmente significativa ( $p=0.09$ ) y que representa el alejamiento de un dato. Este es un indicio del efecto Wahlund que igualmente se ha observado comparando localidades distintas en Florida con estudios de isoenzimas (McClenaghan y O'Shea 1988) y que indica segregación entre las localidades comparadas. Importa tener presente que los niveles de heterocigosidad en el locus DQ $\beta$  y en las isoenzimas correlacionan en los mamíferos (Slade 1992, Yuhki y O'Brien 1990). La comparación entre Catazajá y Chetumal dio un índice de diferenciación  $e=0.24$  que es estadísticamente significativo ( $p=0.03$ , cuadro 2.2).

**Cuadro 2.2. Índices de diversidad genética ( $H_t$ ,  $\pi$ ), diferenciación geográfica ( $\theta$ ) y flujo génico ( $N_m$ ) para el mtDNA y el locus DQ $\beta$  en los manatíes de Catazajá, Chiapas y Chetumal, Quintana Roo.  $\alpha$  indica la probabilidad de error tipo 1 medida por la prueba exacta de Raymond y Rousset (1995a) y  $\beta$  el error de tipo II estimado con el método de Dizon et al. (1994).**

<b>Locus</b>	<b><math>H_t</math></b>	<b><math>\pi</math></b>	<b><math>\theta</math></b>	<b><math>N_m</math></b>	<b><math>\alpha</math></b>	<b><math>\beta</math></b>
<b>mtDNA</b>	<b>0.58</b>	<b>1.65%</b>	<b>0.43</b>	<b>0.28</b>	<b>0.12</b>	<b>0.48</b>
<b>DQ<math>\beta</math></b>	<b>0.42</b>	<b>-</b>	<b>0.24</b>	<b>0.32</b>	<b>0.03</b>	<b>-</b>

## Contrastación de la variación mitocondrial y del locus DQ $\beta$

Como en otros estudios donde se contrasta la variación nuclear y mitocondrial (véase Avise 1994, Palumbi y Baker 1994), en los manatíes se observa un grado de diferenciación poblacional mayor en esta última (cuadro 2.2). Esto puede obedecer sencillamente al menor tamaño poblacional efectivo del mtDNA en comparación a los marcadores nucleares (véase Avise 1994, Takahata y Palumbi 1985) o a una mayor capacidad de dispersión de los machos (Greenwood 1980) como se observa en las ballenas jorobadas (Medrano-González et al. 1995, Palumbi y Baker 1994). En el caso de los manatíes, el flujo génico medido como el número de migrantes por generación ( $N_m$ ) por el método de Barton y Slatkin (1986) y a partir del parámetro  $\theta$  es en el locus DQ $\beta$  apenas mayor que en el mtDNA (cuadro 2.2). Esto indica una capacidad de dispersión, en términos de flujo génico, similar entre ambos sexos.

## BASE DE DATOS

Los resultados obtenidos de las secuencias genéticas así como los datos de las muestras se almacenaron en una tabla llamada "Genetica", en formato de Access 2.0. Esta tabla cuenta con 16 registros, su estructura se muestra en el cuadro 2.3. y el contenido en el Apéndice II.

Cuadro 2.3. Estructura de la tabla "Genetica"

nombre del campo	tipo	tamaño*	Descripción
ID secuencia	Numérico	02	Consecutivo de secuencias
clave tecnica	Texto	10	Clave técnica del manatí
nombre	Texto	10	Nombre del manatí
sexo	Texto	01	Sexo del manatí
longitud	Numérico	04	Longitud del manatí en cm.
localidad	Texto	30	Localidad de muestreo
fecha_colecta	Fecha/Hora	08	Fecha de la colecta
tejido	Texto	08	Tipo de tejido analizado
haplo_mit	Texto	02	Haplotipo mitocondrial (región control)
genotipo_DQb	Texto	05	Genotipo DQ $\beta$
tipo secuencia	Texto	20	Tipo de secuencia
secuencia	Memo**	-	Secuencia

\* Tamaño del campo en bytes

\*\* Los campos Memo almacenan textos de longitud variable

## COMENTARIOS FINALES

A pesar del pequeño tamaño de muestra analizado, el examen conjunto del mtDNA y el locus DQ $\beta$  ha rendido resultados que muestran una primera noción sobre la historia y estructura filogeográfica de los manatíes como especie así como posibles implicaciones generales en el estudio de los mecanismos que mantienen la diversidad genética. Esto deriva del significado categórico de los datos no dependiente del tamaño de muestra y de que la variación genética encontrada en México resulta de procesos involucrados en la distribución geográfica global de la especie.

Nuestros resultados, como los García et al. (1996) y los de McClenaghan y O'Shea (1988), sugieren que los manatíes forman unidades poblacionales naturales en cuerpos de agua discretos entre las cuales hay flujo génico. Esto puede obedecer sencillamente a hábitos de filopatria reproductiva aunque algunos manatíes puedan moverse grandes distancias a lo largo de las costas (Reeves et al. 1992). Al examinar la muestra de Chetumal por separado, en comparación al conjunto de Catazajá y Chetumal, la variación mitocondrial tiende más a la neutralidad ( $D \sim 0$ ) y la distribución de tiempos de coalescencia se insinúa más como una curva monotónica decadente. Eso conlleva la aproximación hacia una entidad poblacional natural a pesar de no ser una aproximación cercana. En México se encuentran clados mitocondriales característicos del sur y del norte del Mar Caribe y eso, junto con lo anterior, sugiere que esta especie se conforma originalmente por una sola metapoblación dividida en poblaciones entre las que hay flujo génico y aislamiento por distancia sensu Wright (1943). Esta metapoblación tal vez se formó como resultado de un proceso de expansión dependiente del incremento en la temperatura y/o el nivel del mar, como sugiere el tiempo de coalescencia promedio que corresponde a un periodo interglacial.

La variación genética examinada en los manatíes de México es similar a la de otros mamíferos, e incluso elevada en el caso del locus DQ $\beta$ , lo que deriva quizá de una historia evolutiva de exposición a patógenos relativamente alta en el hábitat estuarino tropical en sentido amplio. La similitud en las secuencias del locus DQ $\beta$  del manatí y la beluga sugiere la permanencia prolongada de linajes alélicos lo que, dado el alto nivel de variación intraespecífica, puede interpretarse como polimorfismo transespecífico mantenido por selección balanceadora (Hughes y Nei 1989, Klein et al. 1993, Takahata y Nei 1990).

En el mtDNA existe una deficiencia marginal de diferencias nucleotídicas entre los individuos, con respecto a lo que se espera en condiciones de neutralidad ideal, que es indicativa de un cuello de botella reciente. La distribución de tiempos de coalescencia de los linajes mitocondriales sugiere que la población de manatíes está fragmentada, aunque esto no distingue si es así originalmente o producto de una reducción poblacional reciente. La comparación entre las dos localidades de México indica en ambos marcadores genéticos un parámetro  $Nm < 1$  que es pequeño para mantener la unidad de una población (Milis y Allendorf 1996). En suma, si se acepta preliminarmente la hipótesis de que los manatíes conforman originalmente una sola

metapoblación subdividida y con aislamiento por distancia, puede postularse 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. La protección de los manatíes en México es importante, por ello, para restaurar la continuidad poblacional, y consecuentemente evolutiva, de la especie.

Los resultados de este trabajo aunque son muy ricos en información no son en modo alguno conclusivos. Debe primero incrementarse el tamaño y la cobertura geográfica del muestreo de tejidos y en hacer este muestreo más aleatorio. Deben implementarse técnicas alternativas para la preservación de tejidos que rindan extractos de DNA de mayor concentración y de mejor calidad de modo que los procedimientos de amplificación den resultados más reproducibles que los obtenidos hasta la fecha. Esto es particularmente importante para el análisis de marcadores genéticos nucleares para los cuales las técnicas de identificación de alelos son muy sensibles a errores de copia. Se trabajará en la extracción de DNA amplificable de materiales óseos no frescos y en la recolecta de ellos, particularmente de restos arqueológicos. Se buscará contrastar la variación en loci diversos que permitan analizar cuestiones diversas sobre la historia y ecología de los manatíes tales como dispersión diferencial de sexos, tipo de apareamiento, distribución del éxito reproductivo, tamaño efectivo de la población, flujo génico, pérdida de variabilidad genética y capacidad de respuesta inmunológica. Será necesario contrastar la historia poblacional reciente e indicadores de la perturbación del ambiente por el hombre con el grado de variabilidad presente en el MHC de los manatíes en las distintas zonas de su distribución. Es importante para todo eso, formalizar y fortalecer la cooperación con otros grupos de investigación y promover que tal cosa redunde en la formación de estudiantes y en el desarrollo científico de nuestro país.

## **AGRADECIMIENTOS**

Además de los participantes del proyecto, este trabajo ha resultado de la ayuda de numerosas personas en la Comisión Nacional para el uso y conocimiento de la Biodiversidad, El Colegio de la Frontera Sur, la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), el Centro de Ciencia del Caribe de Florida, la Universidad de Florida, la Universidad de Auckland, el Instituto de Biología UNAM, el Instituto de Investigaciones Antropológicas UNAM y la Universidad Veracruzana a quienes agradecemos mucho y sinceramente en lo individual y consecuentemente en lo institucional. Mención explícita la Fundación Marsden de Nueva Zelanda por apoyo económico adicional, así también la Biól. Ma de Jesús Vázquez Cuevas por su colaboración en el proyecto.

## REFERENCIAS

- Avise J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall. New York, NY.
- Avise J.C., Ball R.M. y Amold J. 1988. Current versus historical population sizes in vertebrate species with high gene flow: A comparison based on mitochondrial DNA lineages and inbreeding theory for neutral mutations. *Molecular Biology and Evolution* 5:331-344.
- Baker C.S., Weinrich M.T., Early G. y Palumbi S.R. 1994. Genetic impact of an unusual group mortality among humpback whales. *The Journal of Heredity* 85: 52-54.
- Barnes L.G., Domning D.P. y Ray C.E. 1985. Status of studies on fossil marine mammals. *Marine Mammal Science* 1: 15-53.
- Barton N.H. y Slatkin M. 1986. A quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. *Heredity* 56: 409-415.
- Delwart E.L., Shpaer E.G., Louwagie J., McCutchan F.E., Grez M., RübSamen-Waigmann H. y Mullins J.I. 1993. Genetic relationships determined by a DNA heteroduplex mobility assay: Analysis of HIV-1 *env* genes. *Science* 262: 1257-1261.
- Dizon A.E., O'Corry-Crowe G.M. y Taylor B.L. 1994. Why statistical power is necessary to link analyses of molecular variation to decisions about population structure. Workshop on the analysis of genetic data to address problems of stock identity as related to management (GSID 3). Southwest Fisheries Science Center. La Jolla, CA.
- Domning D.P. 1982. Evolution of manatees: A speculative history. *Journal of Paleontology* 56: 599-619.
- Domning D.P. y Hayek L.C. 1986. Interspecific and intraspecific morphological variation in manatees (Sirenia: *Trichechus*). *Marine Mammal Science* 2: 87-144
- Fairbridge R.W. 1960. The changing level of the sea. *Scientific American* 202(5): 70-79.
- García-R. A., Rudín M., Bowen B., Mignucci-G. A.A. y McGuire P.M. 1996. Estructura genética poblacional del manatí *Trichechus manatus* basado en linajes del ADN mitocondrial. XXI Reunión internacional para el estudio de los mamíferos marinos. Chetumal, QR.
- Genetics Computer Group. 1996. Wisconsin Package V.9.0. Madison, WI.

- Greenwood P.J. 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour* 28: 1140-1162.
- Hartman D.S. 1974. Distribution, status and conservation of the manatee in the United States. National Technical Information Service. PB81-140725. Springfield, VI.
- Harwood J. y Hall A. 1990. Mass mortality in marine mammals: its implications for population dynamics and genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 5: 254-257.
- Hayashi K. 1991. PCR-SSCP: a simple and sensitive method for detection of mutations in the genomic DNA. *PCR Methods and Applications* 1: 34-38.
- Hughes A.L. 1991. MHC polymorphisms and the design of captive breeding programs. *Conservation Biology* 5: 249-251.
- Hughes A.L. y Nei M. 1989. Nucleotide substitutions at major histocompatibility complex class II loci: evidence for overdominant selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 86: 958-962.
- Irvine A.B. 1983. Manatee (*Trichechus manatus*) metabolism and its influence on distribution in Florida, USA. *Biological Conservation* 25: 315-334.
- Klein J., Takahata N. y Ayala F.J. 1993. MHC polymorphism and human origins. *Scientific American* 269(6): 78-83.
- Leatherwood S. y Reeves R.R. 1983. The Sierra Club handbook of whales and dolphins. Sierra Club Books. San Francisco, CA.
- Lessa E.P. y Applebaum G. 1993. Screening techniques for detecting allelic variation in DNA sequences. *Molecular Ecology* 2: 119-129.
- Louis E.J. y Dempster E.R. 1987. An exact test for Hardy-Weinberg and multiple alleles. *Biometrics* 43: 805-811.
- Martin A.P. y Palumbi S.R. 1993. Body size, metabolic rate, generation time and the molecular clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 90: 4087-4091.
- McClenaghan L.R. Jr. y O'Shea T.J. 1988. Genetic variability in the Florida manatee (*Trichechus manatus*). *Journal of Mammalogy* 69: 481-488.
- Medrano-González L., Aguayo-Lobo A., Urbán-Ramírez J. y Baker C.S. 1995. Diversity and distribution of mitochondrial DNA lineages among humpback whales, *Megaptera novaeangliae*, in the Mexican Pacific Ocean. *Canadian Journal of Zoology* 73: 1735-1743.

- Milis L.S. y Allendorf F.W. 1996. The one-migrant-per-generation rule in conservation and management. *Conservation Biology* 10: 1509-1518.
- Moritz C. 1994a. Defining 'evolutionary significant units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 373-375.
- Moritz C. 1994b. Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Molecular Ecology* 3: 401-411.
- Murray B.W., Malik S. y White B.N. 1995. Sequence variation at the major histocompatibility complex locus DQj3 in beluga whales (*Delphinapterus leucas*). *Molecular Biology and Evolution* 12: 582-593.
- Nei M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press. New York, NY.
- Palumbi S.R. y Baker C.S. 1994. Contrasting population structure from nuclear intron sequences and mtDNA of humpback whales. *Molecular Biology and Evolution* 11: 426-435.
- Palumbi S.R., Martin A.P., Romano S., McMillan W.O., Stice L. y Grabowski G. 1991. *The simple fool's guide to PCR*. University of Hawaii. Honolulu, HI.
- Parr L.A., Fain S.R. y Duffield D.A. 1994. Geographic variation in mitochondrial DNA sequence of the three manatee species: Implication for conservation and management strategies. *International symposium on marine mammal genetics*. La Jolla, CA.
- Potts W.K. y Wakeland E.K. 1993. Evolution of MHC genetic diversity: a tale of incest, pestilence and sexual preference. *Trends in Genetics* 9: 408-412.
- Raymond M. y Rousset F. 1995a. An exact test for population differentiation. *Evolution* 49: 1280-1283.
- Raymond M. y Rousset F. 1995b. GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *The Journal of Heredity* 86: 248-205.
- Reeves R.R., Stewart B.S. y Leatherwood S. 1992. *The Sierra Club handbook of seals and sirenians*. Sierra Club Books. San Francisco, CA.
- Sambrook J., Fritsch E.F. y Maniatis T. 1989. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, NY.
- Sanger F., Niklen S. y Coulson A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 74: 5463-5467.



- Slade R.W. 1992. Limited MHC polymorphism in the southern elephant seal: implications for MHC evolution and marine mammal population biology. *Proceedings of the Royal Society of London B* 249: 163-171.
- Swofford D.L. 1993. PAUP: phylogenetic analysis using parsimony, 3.1.1. Illinois Natural History Survey. Champaign, IL.
- Tajima F. 1989a. The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics* 123: 597-601.
- Tajima F. 1989b. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585-595.
- Takahata N. 1990. A simple genealogical structure of strongly balanced allelic lines and trans-species evolution of polymorphism. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 87: 2419-2423.
- Takahata N. y Nei M. 1990. Allelic genealogy under overdominant and frequency-dependent selection and polymorphism of major histocompatibility complex loci. *Genetics* 124: 967-978.
- Takahata N. y Palumbi S.R. 1985. Extranuclear differentiation and gene flow in the finite island model. *Genetics* 109: 441-457.
- Trowsdale J., Grooves V. y Arnason A. 1989. Limited MHC polymorphism in whales. *Immunogenetics* 29: 19-24.
- Weir B.S. y Cockerham C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Whittow G.C. 1987. Thermoregulatory adaptations in marine mammals: Interacting effects of exercise and body mass. A review. *Marine Mammal Science* 3: 220-241.
- Wright S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28: 114-138.
- Xu X. y Arnason U. 1997. The complete mitochondrial DNA sequence of the white rhinoceros, *Ceratotherium simum*, and comparison with the mtDNA sequence of Me Indian rhinoceros, *Rhinoceros unicornis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 7: 189-194.
- Yuhki N. y O'Brien S.J. 1990. DNA variation of the mammalian major histocompatibility complex reflects genomic diversity and population history. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 87: 836-840.

### **3. TELEMETRIA.**

#### **Monitoreo de manatíes marcados con radiotransmisores en Quintana Roo**

Benjamín Morales Vela<sup>1</sup>, Alejandro Ortega Argueta<sup>1</sup>,  
Janneth Padilla Saldívar y Roben K. Bonde<sup>2</sup>

1. El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal  
Carretera Chetumal-Bacalar, Zona Industrial No. 2.  
Apartado Postal 424. Chetumal, Quintana Roo. 77000. MEXICO

2. US Geological Survey. Sirenia Project, Florida Caribbean Science Center  
412 NE 16th Avenue, Room 250. Gainesville, Florida. 32601-3701. USA

## RESUMEN

Se capturaron y marcaron tres manatíes en octubre de 1996 en la bahía de Chetumal, Quintana Roo, dos hembras y un macho, a este último se le colocó un radio transmisor vía satélite PTT (platform terminal transmitter). También se recapturó a una hembra marcada en noviembre de 1994 para reemplazar su radio VHF (very high frequency) y así no perder al animal. En mayo de 1997 se marcaron dos manatíes más, un macho y una hembra. De junio de 1996 a agosto de 1997 se realizaron 200 búsquedas a los siete manatíes marcados en la bahía de Chetumal (dos en 1994 y 5 en 1996-1997), de estos seguimientos 111 fueron exitosos (55.5%) ubicando a los manatíes. El nivel global de precisión de las 111 ubicaciones fue el siguiente: 57.7% (64) a nivel de área, 24.3% (27) estimado y 18.0% (20) real. Fue notable la poca permanencia de los manatíes en la parte central de la bahía de Chetumal a pesar de ser somera (promedio de 3.0 m.), la hembra Gabriela marcada en noviembre de 1994, ha usado esta amplia zona sólo en un 6.2% de sus registros. De los manatíes marcados en 1996 y 1997, sólo el macho Santiago ha permanecido en ella en una proporción importante del 47% de sus registros (n=17). Este poco tiempo de permanencia de los animales, nos indica que la usan principalmente para pasar de una orilla a otra de la bahía. También estos datos permitirán calcular un factor de corrección para los conteos aéreos, al estimar la probabilidad de que un manatí esté en la parte central de la bahía al momento de hacer el censo. Con el seguimiento de los manatíes se tienen los primeros datos sobre el grado de fidelidad que han presentado algunos de los manatíes marcados y de lo cual no se tenía información en México. Las dos hembras marcadas en 1994 han mostrado un nivel importante de fidelidad, una de ellas ha vivido constantemente en el Sistema Lagunar Guerrero por casi tres años. Los resultados obtenidos sobre movimientos, distribución espacial, fidelidad, ubicación de áreas de alta densidad de manatíes y zonas críticas, darán fuerte apoyo técnico al programa de manejo de esta nueva área protegida para el manatí, que es la bahía de Chetumal.

## ABSTRACT

Three manatees (two females and one male) were captured and radio tagged in October, 1996, in Chetumal Bay, Quintana Roo. A satellite transmitter radio (platform terminal transmitter, PTT) was put on the male manatee. As well, a female captured in November, 1994, was captured again to replace her VHF radio so as not to lose her. In May, 1997, two more manatees were radio tagged, a male and a female. From June, 1996, to August, 1997, 200 searches were carried out to find the seven radio tagged manatees in Chetumal Bay. In 111 searches (55.5%) the manatees were found, of which 64 (57.7%) were located within an area, 27 (24.3%) were estimated locations and 20 (18.0%) were actual sightings. Although the middle zone of Chetumal Bay is shallow (average depth=3.0 m), it is observed that manatees hardly ever stay in it. The female "Gabriela" (tagged in November, 1994) has been recorded in this long zone only in 6.2% of her locations, and the male "Santiago" has been recorded in this zone in 47% of his locations (n=17). This low use of the zone indicates that manatees use it chiefly to cross the bay. These data will allow the calculation of a correction factor for aerial surveys, that is, the probability of one manatee being in the middle zone of the bay when the survey is being carried out. The transmitter observations of manatees have provided the first data on the level of permanence in manatee behavior. To date, there has been no information about this aspect of manatee behavior in Mexico. The two females tagged in 1994 have shown a high level of permanence. One of them has frequently stayed in the Laguna Guerrero system for almost three years. The results showing movements, spacial distribution, permanence, high manatee density areas and critical zones will give strong technical support to the management program of Chetumal Bay, which has recently been declared a protected area for the manatee.

## **ANTECEDENTES**

En México no existen antecedentes previos desarrollados por otros grupos de trabajo, sobre el uso de telemetría para el seguimiento de manatíes. Este programa de radio-marcaje se inicia en México en noviembre de 1994, sus objetivos y metas nacen de una reunión de trabajo de especialistas en el tema, procedentes de Belice, Estados Unidos y México, reunidos en septiembre de 1992 en la ciudad de Chetumal, para definir las prioridades de investigación y conservación del manatí en la región del Caribe México-Belice (Morales *et al.*, 1992). Para conocer la distribución temporal, los movimientos y el uso de hábitat de los manatíes, se recomendó iniciar un programa de telemetría a largo plazo, comenzando con uno o dos manatíes en México y posteriormente iniciar este programa en Belice.

El desarrollo de este proyecto, da continuidad al proyecto piloto iniciado en enero de 1994, con apoyo del CONACYT (Ref. N9301-2017), en donde se marcan dos hembras con radios VHF, se entrenó personal en Estados Unidos y se fue ganando experiencia en la captura, marcaje y seguimiento de manatíes.

Es muy deseable que este programa se mantenga y extienda a toda la región del sureste de México donde el manatí se distribuye.

## **OBJETIVOS**

– Conocer los patrones generales de movimientos y describir las áreas de mayor uso para la población de manatíes existente en Quintana Roo, en particular para la bahía de Chetumal.

– Incrementar la base de datos existente en Access 2.0 sobre movimientos y zonas de alto uso para los manatíes que habitan el sureste de México.

## **AREA DE ESTUDIO**

La bahía de Chetumal se ubica en el extremo sur del estado de Quintana Roo, se extiende aproximadamente desde los 17°52' a los 18°50' N y de los 87°50' a los 88°25' W. Es un amplio estuario de 1098 km<sup>2</sup>, y constituye el principal cuerpo de agua costera del Estado (Carriquiriborde, 1994). Su longitud máxima es de aproximadamente 105 Km, con un ancho predominante de 20 Km, con un mínimo de 5 Km en su extremo norte y un máximo de 45 Km en su parte media (figura 3.1).

88°15'

88°00'

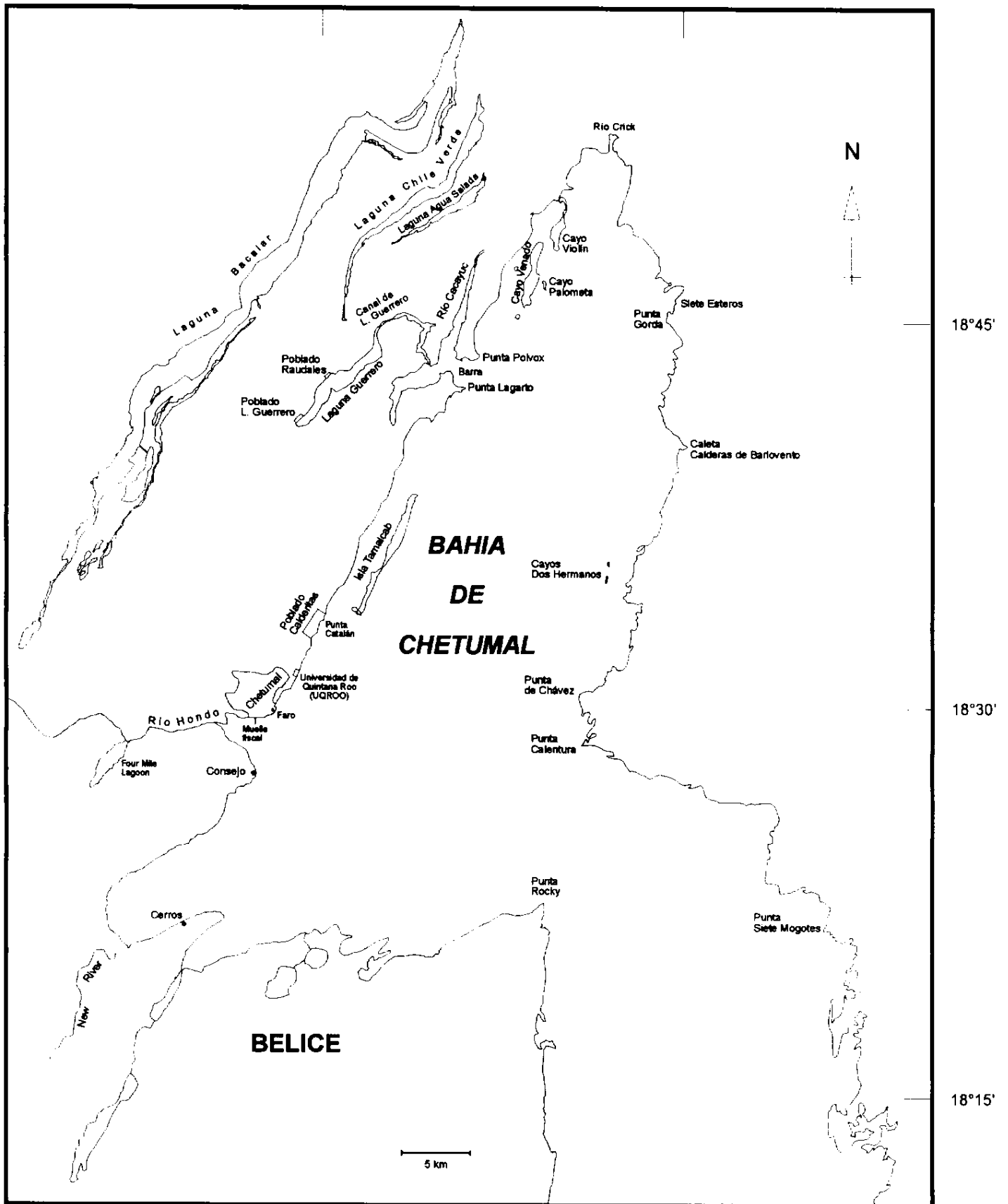


Figura 3.1. Bahía de Chetumal, Quintana Roo. Se incluyen los nombres de los puntos utilizados para referenciar las ubicaciones de los manatíes.

Presenta numerosos aportes de agua dulce, en su parte sur desemboca el río Hondo, que es frontera con el país de Belice, y el río Nuevo en Belice; en su parte noroeste desemboca la laguna Guerrero, la cual a su vez, se alimenta de varias lagunas como la laguna de Bacalar.

En sus riberas norte y este, la bahía recibe agua dulce de varios arroyos de diferente tamaño, los más importantes son el llamado río Crick en su extremo norte y Siete Esteros en su costa noreste, ambos forman extensos humedales de varias decenas de Km cuadrados de escurrimiento de agua de lluvia hacia la bahía. En su costa sur, del lado de Belice, existen otros importantes escurrimientos a lo largo de 50 Km de su costa. La profundidad promedio de la bahía de Chetumal es de  $3.0 \pm 1.30$ , con profundidad mayor en la parte norte. Hay un canal central en su parte media y norte, que alcanza profundidades de 4 a 7 m. En el lado sur de la bahía la profundidad va de 2 a 2.5 m (Morales et al. 1996)

## **METODOS**

**Radio-marcaje.-** El sistema de transmisión utilizado fue diseñado y fabricado específicamente para estudios con manatí, por el personal del proyecto Sirenia del Florida Caribbean Science Center, U.S. Geological Survey (figura 3.2).

Consiste básicamente de un transmisor de tipo VHF, cuyo alcance máximo calculado para un estado del mar de 1 a 3 (Beaufort) es de alrededor de 5 km desde lancha y desde avioneta, alcanza de 12 a 15 km. Este transmisor se introduce en un tubo de PVC que funciona como cápsula de flotación. Esta cápsula se une a un cinturón mediante una varilla de nylon semi-rígida. El cinturón está especialmente diseñado para colocarse en el pedúnculo caudal del manatí, está rodeado de manguera látex, la cual impide que se dañe la piel del animal. La varilla de nylon tiene dos puntos de seguridad, diseñados para romperse en caso de que el animal se atore con algún objeto. También los tomillos y las tuercas con los que están hechas las uniones del cinturón, tienen un período de vida de aproximadamente 2.5 años, al final de este período el cinturón se desprende del animal. Una descripción más detallada del sistema se puede consultar en Rathbun et al. (1987; 1990).

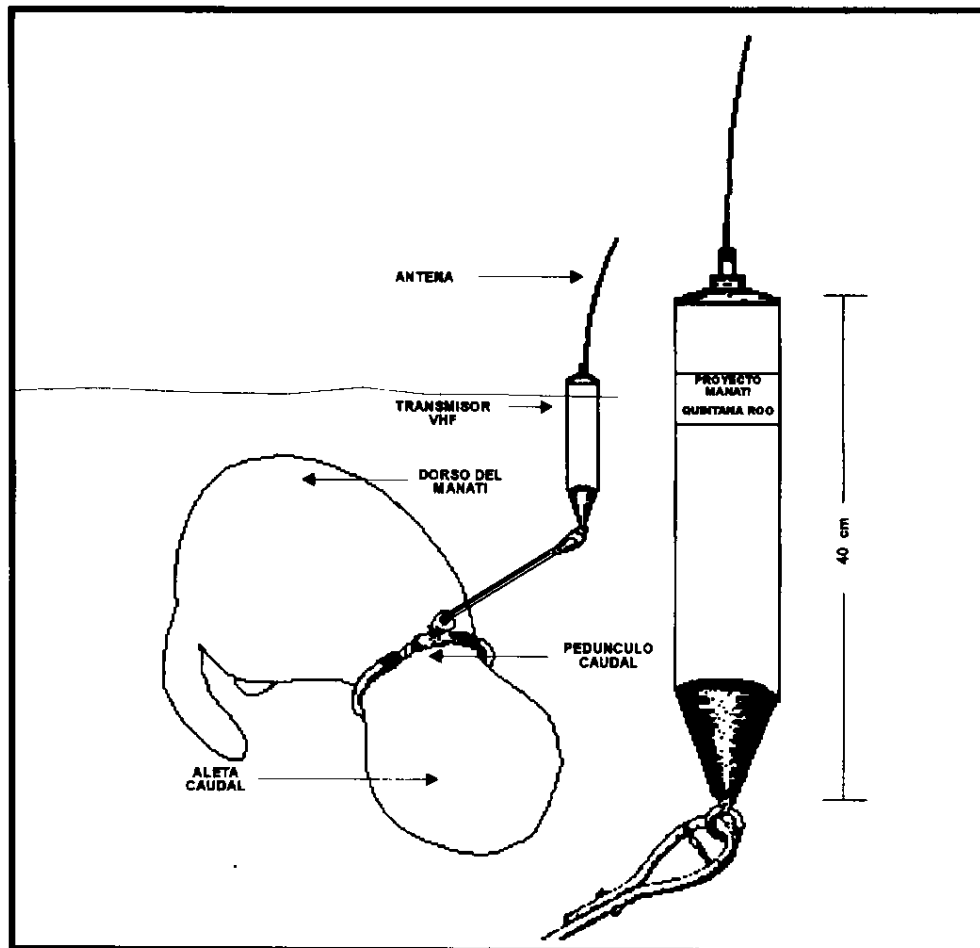


Figura 3.2. Esquema del sistema de radiotransmisor colocado en el manatí. Vista dorsal posterior del manatí (modificado de Rathbun *et al.* 1990).

**Transmisores.** Se usaron transmisores VHF-550 fabricados por TELONICS Inc. (952 E, Impala Ave., Mesa Arizona 85204-6699). Emiten una señal ubicada dentro del intervalo 164 a 166 Mhz.

**Receptores.** Se utilizaron receptores VHF para frecuencias comprendidas entre 164 y 166 MHz. de marca Telonics TR-02 y TR-04. Se utilizaron antenas portátiles en "H" de la marca TELONICS, RA-2AK

**Otro equipo.** Se utilizaron lancha de 23 pies con motores de 25 y 40 HP, brújulas de mano con división de un grado, geoposicionadores por satélite marcas Ensing y Sonny, binoculares 10X50, mapas y fichas de campo.

**Captura.** Por lo general un día previo a las capturas, se realizaron reconocimientos aéreos a bordo de una avioneta CESSNA-123, sobre el área de costa de la bahía de Chetumal, con el fin de conocer la distribución de los manatíes, seleccionar las áreas de captura y permitir que el piloto se familiarizara con éstas. El método de captura fue el siguiente: en la avioneta se realiza un reconocimiento del área seleccionada, al mismo



tiempo, las lanchas se reúnen en un punto estratégico, cercano al área seleccionada. Personal entrenado arroja desde la avioneta una botella de plástico conteniendo un mapa del área con la ubicación de los grupos de manatíes presentes. Una vez conocida la ubicación de los animales, las lanchas se dirigen a los sitios más adecuados para la captura. Cuando existió la posibilidad, se mantenía contado por radio entre la avioneta y la lancha líder para localizar a los animales con mayor precisión. Una vez localizados, las lanchas seguían a algunos individuos. En algunas ocasiones la avioneta permaneció volando en círculos sobre el grupo de manatíes más cercano para facilitar su ubicación.

Se selecciona un manatí y se sigue hasta fatigarlo, lo que permite lazo con facilidad ayudados con una horqueta para colocar una cuerda sobre su rostro. El manatí al sentir la cuerda gira su cuerpo, quedando poco a poco enredado en la cuerda, que se va soltando con una tensión ligera. Finalmente otras personas le sujetan una cuerda por el pedúnculo caudal y lo acercan a la lancha para inmovilizarlo. La toma de medidas y colocación del radio puede realizarse en el sitio de captura si son aguas someras, de no ser así, se tiene que transportar al animal hacia la orilla.

El material y equipo utilizado para la captura fue el siguiente: avioneta Cessna de 4 plazas, lanchas de fibra de vidrio de 23 y 25 pies de eslora, con motores de 40 y 25 HP, lanchas tipo Zodiac de 13 y 10 pies, radios de banda civil, 2 horquetas de aluminio de 3.5 m de largo, cuerdas, tanque y regulador y equipo básico de buceo.

**Seguimientos.** La mayoría de la búsqueda y seguimiento de manatíes se realizaron en lancha, al menos dos veces por semana, desde junio de 1996 a agosto de 1997. También y cuando los manatíes lo permitieron, se realizaron ubicaciones desde tierra. Para la búsqueda de manatíes perdidos se hicieron tres vuelos en avioneta.

**Nivel de precisión.** En la ubicación de los manatíes se usaron tres niveles de precisión para los radios tipo VHF que son: **real** (contacto visual con el manatí), **estimada** (triangulación de la posición con dos y tres puntos de referencia) y de **área general** (por ejemplo: ubicado en la parte norte de laguna Guerrero). Para el radio PTT las ubicaciones proporcionadas por el satélite se consideran como **estimadas**, y tiene 5 niveles de precisión: 3,2,1,A y B, de las cuales sólo se usaron los tres primeros niveles que tienen un error menor de 150 m, 350 y 1000 m., respectivamente.

**Captura de datos.** Todos los datos se capturaron en una base de datos diseñada específicamente en Access 2.0; los datos de ubicaciones geográficas se importan al Sistema de Información Geográfica ARC/INFO.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Manatíes marcados

Se capturaron y marcaron tres manatíes en octubre de 1996, dos hembras y un macho, a este último se le colocó un radio transmisor vía satélite PTT (Permisos: Oficio INE D00-702-3019). También se cambió el radio transmisor a la hembra Carmen, marcada en noviembre de 1994 (Oficio INE D00-702-3019). En mayo de 1997 se marcaron otros dos manatíes, un macho y una hembra (Permiso: Oficio INE DOO 750-3918/97). En estas dos capturas no se pudo cambiar el transmisor a la hembra Gabriela, marcada en noviembre de 1994. En resumen, de 1994 a 1997, se han colocado 8 transmisores en siete manatíes de la bahía de Chetumal, siete tipo VHF y uno de satélite PTT.

De los siete manatíes marcados, se perdió a la hembra Gabriela, que a pesar del esfuerzo realizado, no fue posible reemplazar su transmisor antes de que las baterías dejaran de funcionar. También se perdió a Cecilia que soltó su transmisor y fue posteriormente utilizado en la hembra Janneth; y al macho Santiago, que soltó el transmisor de satélite PTT, el cual también se recuperó y fue devuelto al Proyecto Sirenia de E.U. Por lo que, al término de este proyecto quedan cuatro manatíes con radiotransmisor, el macho Popeye y tres hembras, Nikita, Janneth y Carmen. Al macho Popeye se le buscó por avioneta en tres ocasiones, las dos primeras recorriendo sólo una parte de la bahía y la última búsqueda cubrió toda la bahía, realizándose el 16 de julio de 1997 sin obtener registro del macho, por lo que se supone salió de la bahía. Las frecuencias de los radios y las fechas de captura se muestran en el cuadro 3.1.

Cuadro 3.1. Datos de los manatíes marcados y su frecuencia de radio.

clave técnica	nombre	sexo	longitud (cm)	c. p.*	fecha de captura	lugar de captura	frecuencia VHF
TQR-001	Carmen	H	300	107.00	14-Nov-94	Barra	702
TQR-002	Gabriela	H	301	109.00	17-Nov-94	Barra	675
TQR-003	Santiago	M	285	98.00	02-Oct-96	Barra	604
TQR-004	Nikita	H	276	92.50	02-Oct-96	Barra	392
TQR-005	Cecilia	H	285	98.80	05-Oct-96	Cacayuc	726
TQR-001	Carmen	H	290	94.50	10-Oct-96	Canal	742
TQR-006	Janneth	H	280	90.00	18-May-97	Cacayuc	726
TQR-007	Popeye	M	292	—	17-May-97	Cacayuc	674

\* circunferencia del pedúnculo caudal en cm.

## Seguimientos

De junio de 1996 a agosto de 1997 se realizaron 200 búsquedas a los siete manatíes marcados en la bahía de Chetumal, de estos esfuerzos 111 fueron exitosos (55.5%) ubicando a los manatíes. El nivel global de precisión de las 111 ubicaciones fue el siguiente: 57.7% (64) a nivel de área, 24.3% (27) estimado y 18.0% (20) real (figura 3.3).

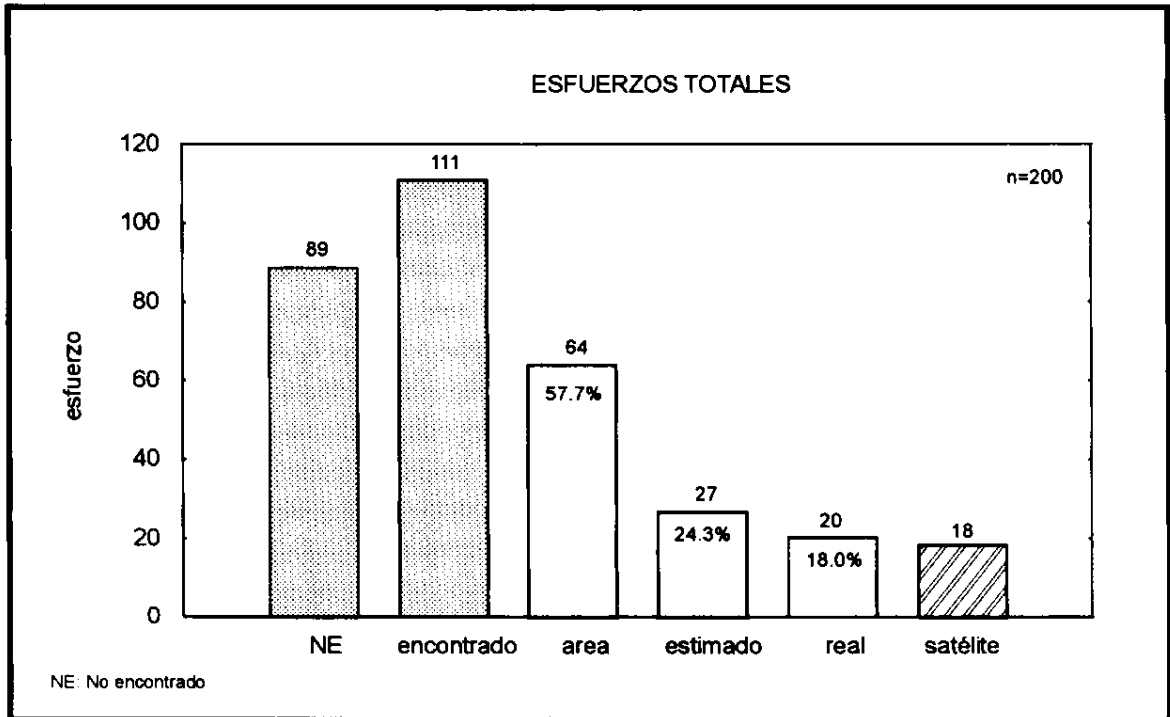


Figura 3.3. Esfuerzo de búsqueda y éxito de seguimientos a 3 niveles de precisión (área, estimado y real) para los animales marcados, del 1o. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997. Las ubicaciones de satélite del macho Santiago no se consideraron como esfuerzos de búsqueda.

A nivel individual, el éxito de ubicación obtenido así como el nivel de precisión varió para cada uno de los animales, dependiendo de la accesibilidad del área donde se encontraran, de su grado de movimiento y del poder establecer un patrón de uso de un área específica. Estas diferencias se muestran en la figura 3.4.

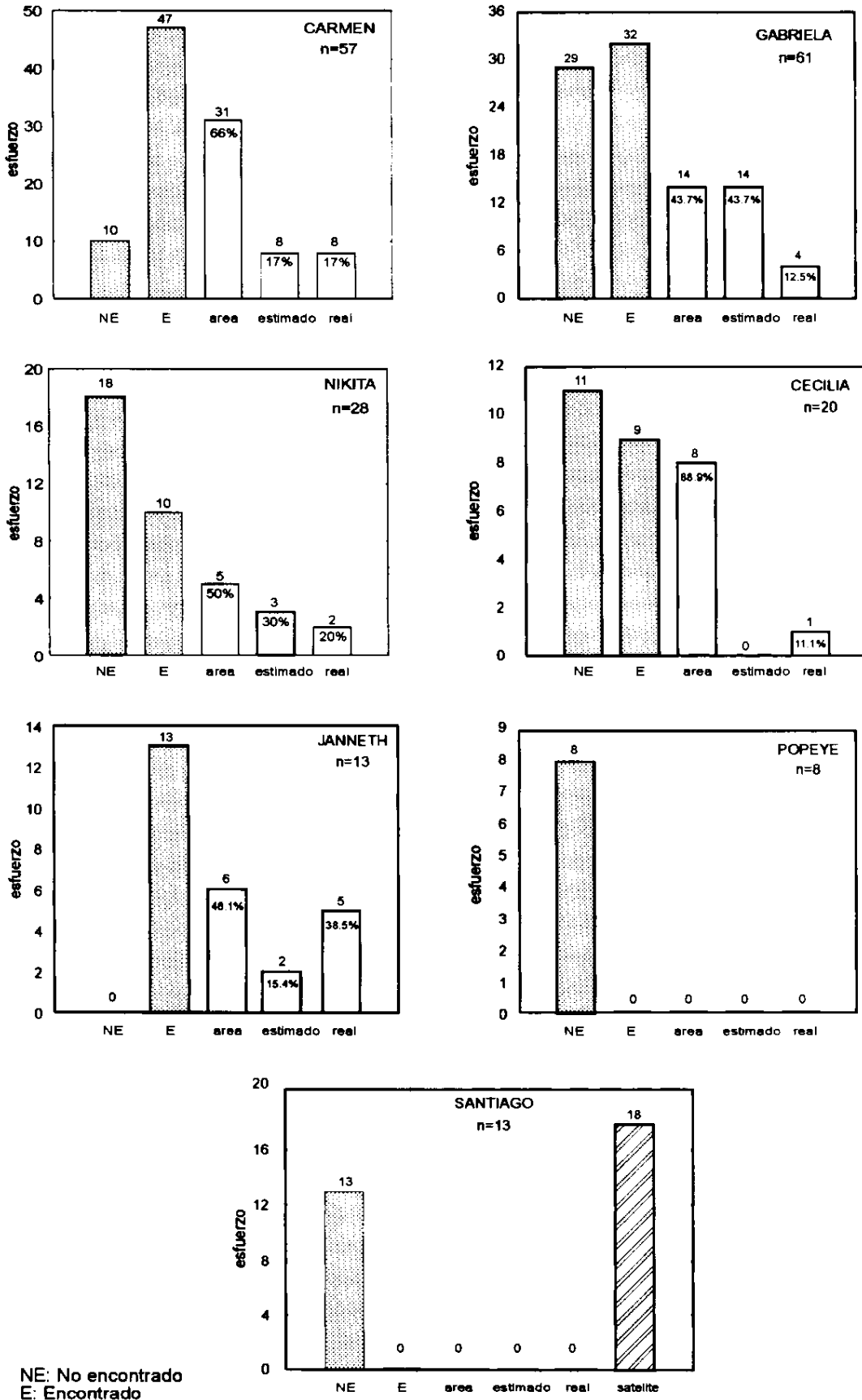


Figura 3.4. Esfuerzo de búsqueda y éxito de seguimientos a 3 niveles de precisión para los manatíes marcados, del 1o. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997. Las ubicaciones de satélite del macho Santiago no se consideraron como esfuerzos de búsqueda.

La diferencia en el esfuerzo realizado para cada manatí, refleja la fecha distinta en que fue marcado, es decir, las hembras Carmen y Gabriela recibieron mayor atención por tener seguimiento de ellas desde el inicio del proyecto, en comparación con los otros manatíes que fueron marcados posteriormente. El nivel de eficiencia también varió para cada animal. Las hembras Carmen y Janneth, fueron muy predecibles en su movimiento, lo que permite localizarlas con mayor facilidad y con esto aumentar la eficiencia de búsqueda, además, el área de uso de la hembra Carmen son aguas tranquilas, someras y delimitadas geográficamente (figura 3.5), lo que permite tener mejor transmisión y recepción de la señal y mejorar el tiempo de ubicación. En los manatíes que usaron zonas abiertas, la búsqueda y ubicación fue más difícil, debido en parte a condiciones climáticas menos favorables y a que los animales presentaron mayor movimiento y cambio de sus áreas. Esto se refleja en los datos de la hembra Gabriela con eficiencia de ubicación del 52.5%, Nikita con 35.7% y Cecilia con 45.0%. Para el caso de Gabriela el nivel de precisión estimado es relativamente alto, debido a que una parte de su área estaba frente a la ciudad de Chetumal, lo que permitió monitorearla desde tierra en varias ocasiones.

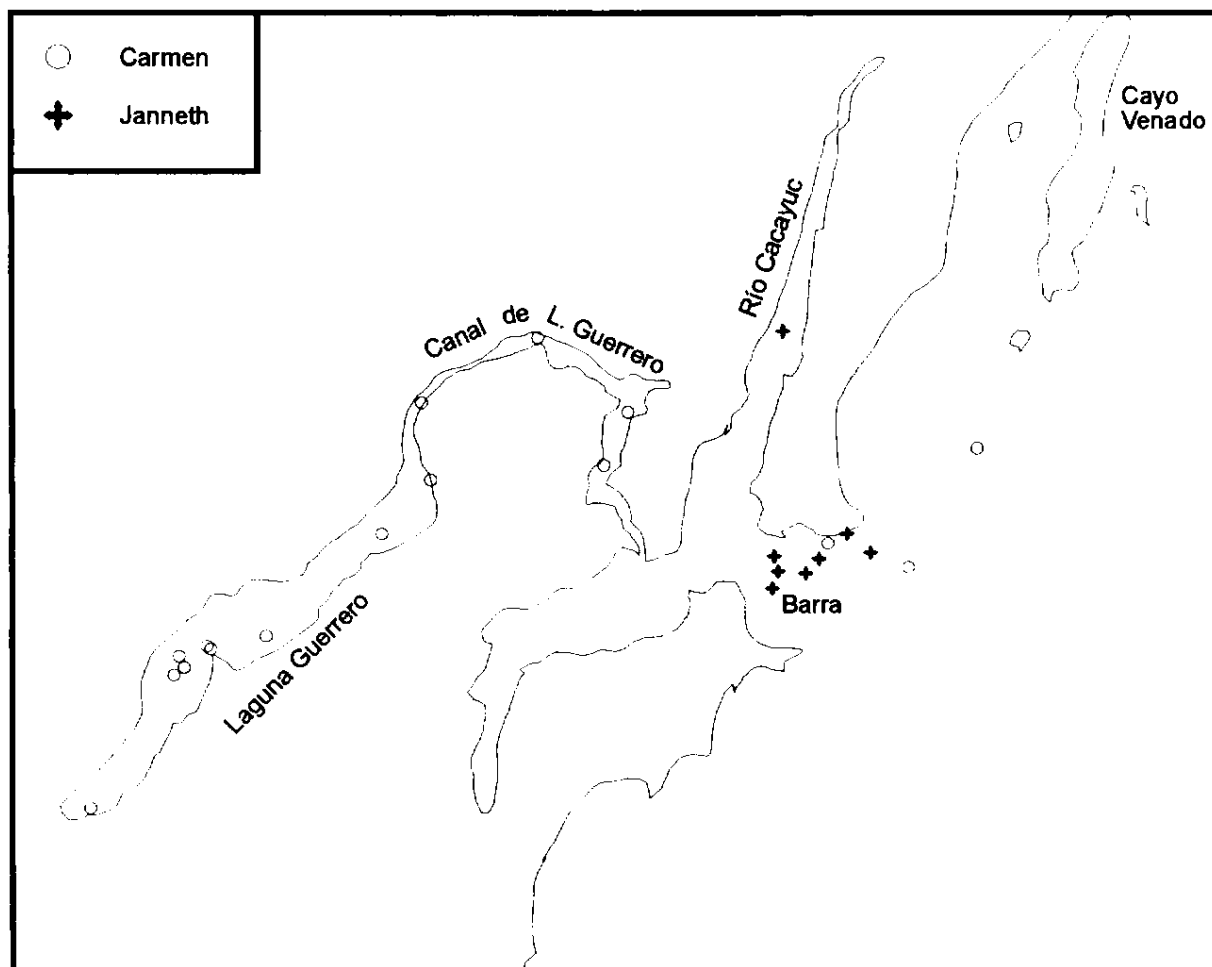


Figura 3.5. Sistema lagunar Guerrero, área de uso de hábitat de las hembras marcadas Caneen y Janneth.

El seguimiento de los machos fue menos eficiente a pesar de que se usó un radio de transmisión vía satélite. Este radio se le colocó al macho Santiago el día 2 de octubre de 1996 y el manatí logró desprenderse del transmisor alrededor del 14 de diciembre del mismo año, cubriendo 73 días de trabajo con 15 ubicaciones de precisión nivel 3, 2 y 1, que fueron las usadas en este estudio.

La gran movilidad que presentó Santiago también dificultó que el satélite recibiera buenas señales para obtener niveles de precisión de 3 y 2. Después de su captura se registraron niveles de ubicación de 1. Para el caso del macho Popeye, sólo se tiene su registro el día que se le capturó. Además del esfuerzo por lancha, se le buscó por avioneta en tres ocasiones sin poder localizarlo

### **Distribución espacial y zonas de uso constante**

La figura 3.6 muestra la distribución espacial de las ubicaciones de los manatíes marcados y monitoreados desde noviembre de 1994 a agosto de 1997. Esta figura divide a la bahía de Chetumal en 19 zonas, las cuales fueron delimitadas basándose en la distribución de las ubicaciones de los manatíes, y en aspectos topográficos que permitieran ubicar sus límites en el campo. En esta misma figura se incorporan todos los registros en sus 3 niveles de precisión.

Con esta representación gráfica de las ubicaciones (figura 3.6) es fácil distinguir las zonas que han utilizado con mayor frecuencia, resaltando las siguientes zonas: El Sistema Lagunar Guerrero, que incluye laguna Guerrero (LG), canales (CAN), Cacayuc (CAC) y Barra (BAR). En esta área la hembra Carmen se ha mantenido desde noviembre de 1994, sumando el 70.6% de sus registros, el resto se ubican en la zona de costa frente a la barra (FBA), sumando así 100% (cuadro 3.2). La hembra Janneth, en su corto tiempo de seguimientos, tiene el 93% de ubicaciones en este sistema (figura 3.5). También se han acumulado registros de otros manatíes no marcados, incluyendo hembras con cría, grupos grandes y actividad de reproducción.

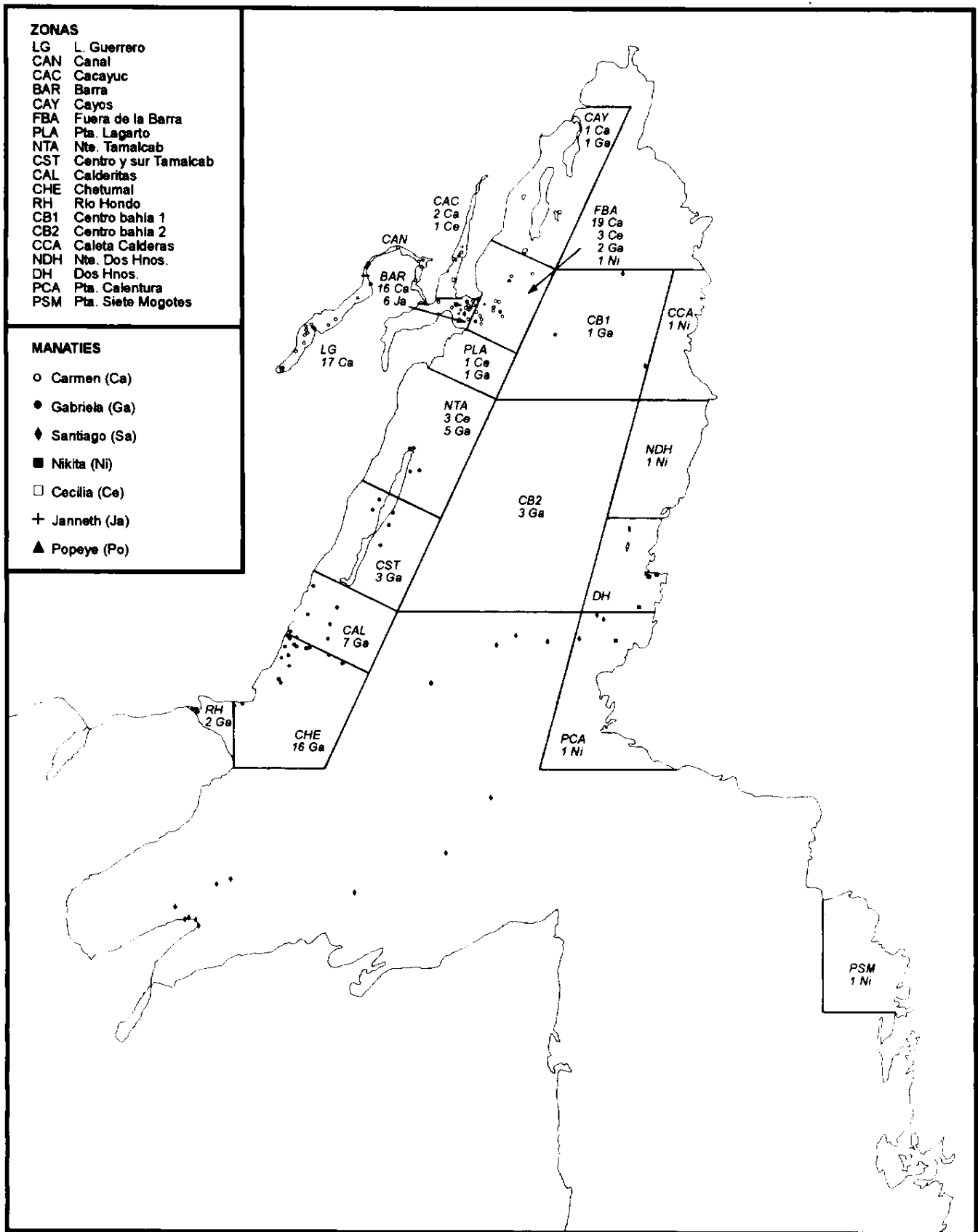


Figura 3.6. Ubicaciones de los manatíes marcados durante el periodo del 14 de noviembre de 1994 al 31 de agosto de 1997. La bahía se dividió en 19 zonas para ubicar los registros a nivel de área, señalados con un número. Se representan también los registros de precisión real y por triangulación, representados con un símbolo diferente para cada uno de los manatíes marcados.

Cuadro 3.2. Número de ubicaciones y porcentaje de utilización de diferentes hábitats por 6 manatíes marcados en la bahía de Chetumal.

tipo de hábitat	MANATÍES											
	Carmen		Gabriela		Cecilia		Janneth		Nikita		Santiago	
	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%	total	%
L. Guerrero	43	42.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Barca	29	28.4	1	1.2	2	20	13	93	1	9.1	1	6
Costa	30	29.4	71	87.6	8	80	1	7	10	90.9	8	47
Centro	0	0	5	6.2	0	0	0	0	0	0	8	47
Río Hondo	0	0	4	5.0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>102</b>	<b>100%</b>	<b>81</b>	<b>100%</b>	<b>10</b>	<b>100%</b>	<b>14</b>	<b>100%</b>	<b>11</b>	<b>100%</b>	<b>17</b>	<b>100</b>

En la franja de costa entre la isla Tamalcab (NTA) y el río Hondo (RH), se ha mantenido la mayor parte del tiempo la hembra Gabriela (un poco menos del 87.6% de sus registros).

Con esta muestra de 7 manatíes marcados la importancia de otras áreas no está bien reflejada, como es el caso del río Hondo, que sólo la hembra Gabriela lo ha usado en un 5.0% sin internarse más allá de la boca, a pesar de tener registros de manatíes en censos aéreos y constantes reportes de avistamientos de manatíes sobre el río.

En el lado Este de la bahía, el área que han usado los manatíes con mayor frecuencia son las zonas Dos hermanos (DH) y Punta Calentura (PCA), donde Nikita presentó 7 de sus 11 registros y Santiago tres de sus 16 registros confiables.

Es notable la poca permanencia de los manatíes en la parte central de la bahía de Chetumal a pesar de ser somera (promedio de 3.0 m.). De las dos primeras hembras marcadas en noviembre de 1994, sólo una de ellas (Gabriela) ha usado esta amplia zona, con el 6.2% de sus registros. De los manatíes marcados en 1996 y 1997, sólo el macho Santiago ha permanecido en ella en una proporción importante de 47% de sus registros. Este poco tiempo de permanencia de los animales, nos indica que la usan principalmente para pasar de una orilla a otra. Estos resultados afirman la tendencia de distribución espacial de los manatíes en esta bahía de Chetumal, obtenida a través de censos aéreos (Morales y Olivera 1994), y permiten hacer más eficientes los conteos poblacionales, al tener información para estimar un factor de corrección importante, que es la probabilidad de que un manatí use la zona centro cuando se realiza el conteo sobre la franja costera, que es la de mayor uso. También los resultados obtenidos afirman la tendencia general para la especie de seguir dos patrones: estar en zonas bajas y/o cercanas a la costa (Hartman 1979; Powell y Rathbun 1984).

Una zona de importancia crítica es el sistema lagunar Guerrero (figuras 3.5 y 3.6), donde la hembra Carmen se ha mantenido desde noviembre de 1994, acumulando el 70.6% de sus registros en esa área, y el 100% si consideramos los registros obtenidos en el área costera adyacente al sistema lagunar Guerrero. También esta área lagunar tiene constante presencia de otros manatíes, observándose con frecuencia a hembras



con sus crías y en ocasiones, a grupos grandes que al menos en uno se ha podido observar actividad relacionada con reproducción.

## **Fidelidad**

Este estudio también permite conocer el grado de fidelidad que han presentado algunos de los manatíes marcados y de lo cual no se tenía información en México. Entendemos por fidelidad como la tendencia de un animal a regresar a un área previamente ocupada o a permanecer en la misma área, por un período prolongado de tiempo (White y Garrott 1990). La hembra Carmen ha mostrado un nivel alto de fidelidad al área, haciendo uso constante del Sistema Lagunar Guerrero por casi tres años. Le sigue la hembra Gabriela que se mantuvo en un área bien definida hasta que perdimos su señal, ambas tuvieron cría después de haber sido marcadas. Comparando esta información con lo que se conoce de los manatíes de Florida, se tienen datos de que un grupo de 10 manatíes identificados permanecieron en un mismo sistema de ríos por un promedio de cinco años, con un rango de 2 a 9 años (Rathbun *et al.*, 1990).

A diferencia de las hembras y basados en muy pocas ubicaciones, los dos machos marcados (Popeye y Santiago), han presentado mayor grado de movimiento e inicialmente menor fidelidad a un área específica que las hembras. Esto deberá corroborarse con un número mayor de machos marcados y usando los radios de satélite, para asegurar su seguimiento. También esto permitirá definir el papel de los machos y hembras en la dispersión genética en el área continental del Caribe.

En la mayoría de los mamíferos, los machos presentan mayor grado de dispersión que las hembras (Shields 1987). Con relación a los manatíes de Florida, En Crystal river, las hembras han mostrado una mayor tasa de retorno a las áreas de veraneo que los machos. También en la bahía de Kings, Florida, las hembras lactantes llegan temprano en otoño y permanecen más tiempo que otros manatíes, por lo que las hembras se mueven menos extensivamente que los machos (Rathbun *et al.*, 1990).

## **Movimientos estacionales**

En esta muestra las dos primeras hembras marcadas han mostrado poco cambio de uso de áreas desde su inicio. También ambas tuvieron cría, factor que pudiera acentuar el poco cambio de áreas. De las otras tres hembras sin cría marcadas, tenemos pocos datos para definir sus movimientos estacionales, una de ellas perdió el radio poco tiempo después de su marcaje (Cecilia), Janneth se ha mantenido en la zona de captura y Nikita cambió de costa y apenas estamos definiendo su área de uso y sus patrones generales de movimientos (figura 3.7). A diferencia de las hembras y con la cautela y limitación de tener pocos datos, los machos tienden a presentar un mayor nivel de movimiento, el macho Santiago cambió constantemente de lugar a lo largo de su seguimiento (figura 3.8) y el macho Popeye aparentemente dejó la bahía de Chetumal y no se tiene idea de donde se encuentra.

Toda esta información sobre movimientos, distribución espacial, fidelidad de las hembras y machos, y la ubicación de áreas de constante uso por los manatíes, es información nueva y muy valiosa, que deberá ser tomada en cuenta para el diseño del programa de manejo de la bahía de Chetumal, la cual fue declarada área protegida para la conservación del manatí en octubre de 1996. Este programa deberá incluir señalización de las áreas de alto uso por los manatíes, rutas de movimiento y zonas de alta densidad de animales, elementos que dictarán los límites para la regulación de áreas de navegación, pesca y uso recreativo (turismo y local). Otra contribución importante de los datos obtenidos es que la franja de alta densidad de manatíes, estimada en 1.8 Km. a partir de la línea de costa (Morales y Olivera 1994), se extiende a 2.5 Km., lo cual es importante para aspectos de manejo. Para un mayor detalle de las ubicaciones y datos de las mismas, ver el Apéndice 1.

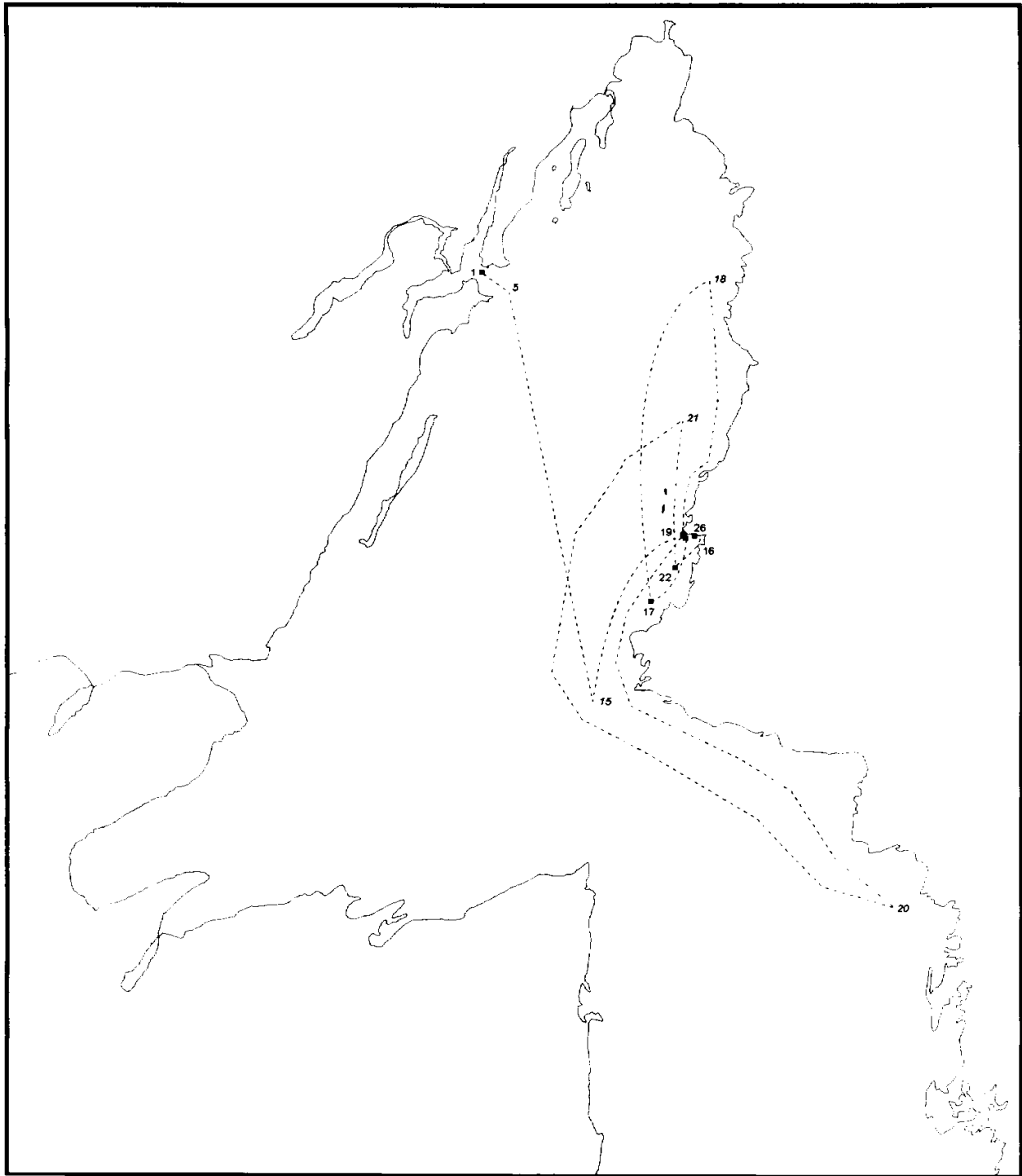


Figura 3.7. Movimientos estacionales de la hembra Nikita, durante del período del 2 de octubre de 19% al 31 de agosto de 1997. Los números corresponden al consecutivo de ubicaciones del cuadro 6 del Apéndice 1.

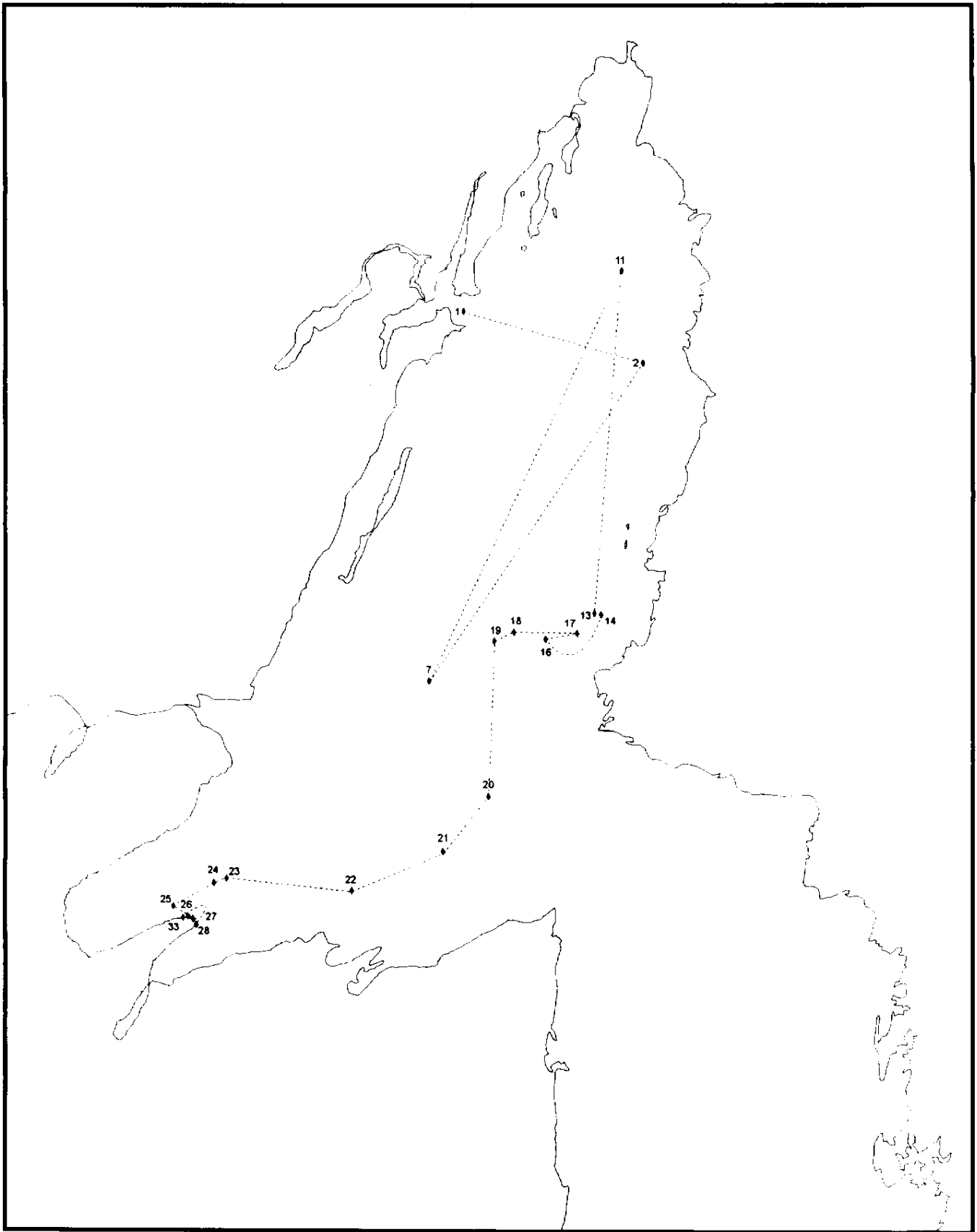


Figura 3.8. Movimientos estacionales del macho Santiago, durante el periodo del 2 de octubre al 14 de diciembre de 1996. A partir del punto 26, se consideró que el radio se desprendió del manatí, quedando a la deriva hasta quedar atorado en el manglar. Los números corresponden al consecutivo de ubicaciones del cuadro 5 del Apéndice 1.

## BASE DE DATOS

Los datos de los animales marcados y de los seguimientos, se almacenaron en 2 tablas llamadas "Manatíes" y "Seguimientos", respectivamente. La primera de ellas contiene 8 registros con los datos de los manatíes marcados. La hembra Carmen aparece en 2 ocasiones (noviembre de 1994 y octubre de 1996) ya que se registraron también los datos del reemplazo del radio. La tabla de seguimientos contiene 328 registros, que son los datos de las búsquedas de los manatíes que se han realizado desde noviembre de 1994 hasta agosto de 1997. Las tablas se elaboraron en formato de Access 2.0. La estructura de las mismas se muestra en los cuadros 3.3a y 3.3b. Los datos geográficos se proyectaron en el Sistema de Información Geográfica Arc Info y se han visualizado en Arc View 3.0.

**Cuadro 3.3. Estructura de las tablas**

a) "Manatíes"

nombre del campo	tipo	tamaño*	Descripción
ID_animal	Numérico	04	Clave del manatí marcado
clave_tecnica	Texto	10	Clave técnica
nombre	Texto	15	Nombre
sexo	Texto	01	Sexo
longitud total	Numérico	08	Longitud total en cm
circunferencia	Numérico	08	Circunferencia del pedúnculo caudal en cm
fecha_instal	Fecha/Hora	08	Fecha de instalación del radio
lugar captura	Texto	50	Lugar de captura del manatí
hora_captura	Fecha/Hora	08	Hora de captura del manatí
hora_liberacion	Fecha/Hora	08	Hora de liberación del manatí
color_radio	Texto	15	Color del radio
frec	Texto	04	Frecuencia del transmisor (VHF)

b) "Seguimientos"

nombre del campo	tipo	tamaño*	Descripción
ID_seguimiento	Numérico	04	Número de seguimiento
ID_animal	Numérico	04	Clave del manatí marcado
Fecha	Fecha/Hora	08	Fecha del seguimiento
Latitud	Numérico	08	Latitud (UTM)
lat_gra	Numérico	02	Grados de latitud
lat_min	Numérico	01	Minutos de latitud
lat_seg	Numérico	01	Segundos de latitud
Longitud	Numérico	08	Longitud (UTM)
lon_gra	Numérico	02	Grados de longitud
lon_min	Numérico	01	Minutos de longitud
lon_seg	Numérico	01	Segundos de longitud
Precision	Texto	01	Precisión de la ubicación del manatí (A:área,E:estimada,R:real,N:No se encontró)
Nubosidad	Numérico	01	Porcentaje de nubosidad
Estado mar	Numérico	01	Estado del mar en escala de Beaufort
Hora_localiza	Fecha/Hora	08	Hora de localización del manatí por radio
Medio	Texto	01	Medio de búsqueda (L:lancha, T:tierra, A:aéreo)
Hora_ubicacion	Fecha/Hora	08	Hora de ubicación visual del manatí
area	Texto	100	Area donde se localizó al manatí o donde se realizó el esfuerzo de búsqueda

\* Tamaño del campo en bytes

## **AGRADECIMIENTOS**

Damos especial agradecimiento a Daniel Rovelo, por su capacidad y responsabilidad en el desarrollo de las diferentes actividades de campo de este proyecto.

Al personal del Proyecto Sirenia del US Geological Survey, Florida Caribbean Science Center, por su asesoría y apoyo incondicional en el estudio de los manatíes de México, en especial a Jim Reid y a la Dra. Lynn Lefebvre.

Agradecemos también el apoyo de Laura Cárdenas y la Fís. Ana Luisa Guzmán de la Conabio, y al personal administrativo de Ecosur-Chetumal por el cuidado administrativo del proyecto.

Agradecemos a las autoridades del Instituto Nacional de Ecología por los rápidos trámites y autorización de los permisos de captura y marcaje de manatíes.

## REFERENCIAS

- Carriquiriborde, H. L. E. 1994. Pesquerías y Acuicultura: sus perspectivas en la bahía de Chetumal. p. 177-196. *In*: Suárez-Morales (ed.) Estudio Integral de la Frontera México Belice, 211 pp. Centro de Investigaciones de Quintana Roo, México.
- Hartman, D. S. 1979. Ecology and Behavior of the manatee (*Trichechus manatus*) in Florida. Special Publ. No 5. The American Society of Mammalogists. 153 pp.
- Morales, V. B.; J. Gibson; L. W. Lefebvre; J. Reynolds, III; G. B. Rathbun y L.D. Olivera G. 1992. Outline of recommendations for manatee research and management in Quintana Roo, México and Belize. Documento del Taller sobre prioridades de investigación y conservación del manatí en la región del Caribe de México y Belice. CIQRO-ECOSUR (No publicado) 7 pp. Quintana Roo, México. Septiembre 1992.
- Morales, V. B. y L. D. Olivera G. 1994. Distribución Espacial y Estimación Poblacional de los manatíes en la bahía de Chetumal, Quintana Roo, México. *Rev. Inv. Cient.* 2 (No. Esp. SOMEMMA 2), UABCS: 27-52.
- Morales, V. B.; L. D. Olivera G. y P. Ramírez G. 1996. Conservación de los manatíes en la región del Caribe de México y Belice. Informe técnico preparado por El Colegio de la Frontera Sur, ECOSUR. Inf. Téc. No. MM01-Conacyt N9301-2017. 131 pp.
- Powell, J. A. and G. B. Rathbun. 1984. Distribution and abundance of manatees along the northern coast of the Gulf of Mexico. *Northeast Gulf Science*. Vol. 7, No. 1, p. 1-28. July 1984.
- Rathbun, G.B.; J.P. Reid and J. Bourassa. 1987. Design and construction of a tethered, floating radio-tag assembly for manatees. Report prepared by U. S. Fish and Wildlife Service, Denver Wildlife Research Center, Gainesville Field Station. NTIS Doc. No. PB87-161345. 46 pp.
- Rathbun, G.B.; J.P. Reid and G. Carowan. 1990. Distribution and movement patterns of manatees (*Trichechus manatus*) in Northwestern Peninsular Florida. *Florida Mar. Res. Publ.* 48. 33 pp.
- White, G.C. and R. A. Garrot. 1990. *Analysis of wildlife radio-tracking data*. Academic Press, Inc. 383 pp.
- Shields, W. M. 1987. Dispersal and mating systems: Investigating their causal connections p. 3-24. *In Mammalian Dispersal Patterns*. Chepko-Sade, B. D. y Z. T. Halpin (Ed.) . The University of Chicago Press, Ltd. London

## **APENDICE I. Ubicaciones de los manatíes marcados**

En el presente apéndice se presentan en cuadros, las ubicaciones de los manatíes con los siguientes datos: Número consecutivo (No.), fecha de la ubicación (fecha), precisión de la ubicación (P, la cual puede ser R:real, E: estimada o A:área), medio por el que se realizó la ubicación (M, el cual puede ser L:lancha, T:tierra, A:aéreo o S:satélite), latitud y longitud (en unidades UTM), descripción del área de ubicación (área) y algún comentario relevante de la ubicación (comentarios). Los cuadros 1 y 2 no presentan este último dato.

Se presentan también figuras que muestran las ubicaciones, para cada manatí se representan con un símbolo y un número (correspondiente al consecutivo del cuadro) las ubicaciones reales y estimadas. Las ubicaciones logradas solo a nivel de área general se representan únicamente con un número.

Los cuadros 1 y 2, presentan los datos de las ubicaciones de las hembras Carmen y Gabriela respectivamente, así como la figura 1, a partir de noviembre de 1994 y hasta mayo de 1996, datos que se obtuvieron del proyecto "Conservación de los manatíes en la región del Caribe de México y Belice", Conacyt Ref. N9301-2017.

Los cuadros restantes, muestran los datos de las ubicaciones de los manatíes marcados obtenidas durante la realización de este proyecto, de junio de 1996 a agosto de 1997.



Cuadro 1. Ubicaciones de la hembra Carmen, del 14 de noviembre de 1994 al 31 de mayo de 1996.

No..	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area
1	14/11/94	R	L	2070699	376760	Entrada de río Cacayue
2	15/11/94	A	L			Frente a Punta Polvox
3	17/11/94	A	L			Frente a Punta Polvox
4	19/11/94	R	L	2072454	382975	Sur de cayo Venado
5	1/12/94	A	L			Entre Punta Polvox y Cayo Venado
6	3/12/94	A	L			Entre Punta Polvox y Cayo Venado
7	4/12/94	A	L			Entre Punta Polvox y Cayo Venado
8	7/12/94	A	L			Fuera de la Barra
9	15/12/94	E	L	2070670	380788	Frente a punta Polvox
10	17/12/94	A	L			Norte de punta Polvox
11	19/12/94	R	L	2070098	380352	Sureste de punta Polvox
12	29/12/94	R	L	2070718	380488	Frente a punta Polvox
13	6/01/95	R	L	2069250	379500	Sur de punta Polvox
14	11/01/95	A	A			Barra
15	18/01/95	A	T			Frente a punta Polvox
16	19/01/95	R	L	2070300	377600	Barra
17	9/02/95	A	L			Barra
18	14/02/95	R	L	2070207	378608	Barra
19	15/02/95	R	L	2070207	378608	Barra
20	9/03/95	A	T			Frente a Punta Polvox
21	10/03/95	A	T			Frente a Punta Polvox
22	5/05/95	A	T			Barra
23	6/05/95	A	T			Barra
24	7/06/95	A	T			Barra
25	8/06/95	A	T			Barra
26	28/06/95	R	L	2073000	372350	Canal de laguna Guerrero
27	4/07/95	R	L	2073325	377821	Río Cacayuc
28	13/07/95	R	L	2069137	368169	Laguna Guerrero
29	27/07/95	E	L	2069570	379550	Sur de punta Polvox
30	3/08/95	R	L	2066500	366500	Frente al poblado de laguna Guerrero
31	24/08/95	R	L	2069721	380971	Frente a la Barra
32	5/09/95	R	L	2070350	378750	Barra
33	28/09/95	E	L	2066500	366650	Frente al poblado de laguna Guerrero
34	10/10/95	A	L			Barra
35	12/10/95	E	L	2069250	308500	Laguna Guerrero
36	14/10/95	E	L	2067500	367500	Laguna Guerrero
37	15/10/95	E	L	2073350	375800	Canal de laguna Guerrero
38	16/11/95	R	L	2073750	378200	Río Cacayuc
39	19/11/95	R	L	2073350	375800	Canal de laguna Guerrero
40	19/11/95	R	L	2073250	375500	Canal de laguna Guerrero
41	21/11/95	A	L			Barra
42	6/12/95	A	L			Barra
43	14/12/95	R	L	2070850	377550	Río Cacayuc
44	15/02/96	R	L	2070425	379019	Barra
45	17/02/96	R	L	2070012	379224	Boca de la Barra
46	26/02/96	A	L			Fuera de la Barra
47	12/03/96	E	L	2069784	379438	Frente a la Barra
48	16/03/96	R	L	2069589	370085	Laguna Guerrero
49	1/04/96	A	L			Barra
50	3/04/96	R	L	2069576	378730	Barra
51	18/04/96	A	L			Río Cacayuc
52	19/04/96	A	L			Laguna Guerrero
53	22/04/96	E	T	2068060	368060	Laguna Guerrero
54	21/05/96	A	L			Barra
55	28/05/96	R	L	2072945	372235	Canal de laguna Guerrero

\*Captura, macaje y liberación del manatí

Cuadro 2. Ubicaciones de la hebra Gabriela, del 17 de noviembre de 1994 al 31 de mayo de 1996.

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area
1	17/11/94	R	L	2070662	378618	*Barra
2	20/11/94	E	T	2061340	375064	Punta norte de isla Tamalcab
3	22/11/94	E	T	2061327	374803	Punta norte de isla Tamalcab
4	15/12/94	E	L	2070015	380836	Frente a la Barra
5	17/12/94	A	L			Este de Punta Lagartos
6	19/12/94	A	L			Sureste de Punta Lagarto
7	29/12/94	A	L			Centro de la Bahía, a la altura de la Barra
8	6/01/95	R	L	2069450	379200	Noreste de punta Lagarto
9	18/01/95	A	T			Frente a Punta Polvox
10	14/02/95	A	L			Centro de la Bahía, a la altura de isla Tamalcab
11	15/03/95	R	L	2050054	369473	Noroeste de la UQROO
12	19/03/95	A	T			Suroeste de Tamalcab
13	20/03/95i	A	T			Noreste de la UQROO
14	22/03/95	A	L			Frente a la UQROO
15	23/03/95	A	L			Frente a la UQROO
16	26/03/95	A	T			Noreste de la UQROO
17	31/03/95	A	T			Frente a la UQROO
18	11/04/95	A	L			Entre la UQROO e isla Tamalcab
19	22/04/95	A	T			Frente a la UQROO
20	25/04/95	A	T			Frente a la UQROO
21	4/05/95	R	L	2049088	369388	Frente a la UQROO
22	10/05/95	E	T	2058050	372800	Costa interior de isla Tamalcab
23	11/05/95	A	T			Costa interior de isla Tamalcab
24	19/06/95	R	L	2048971	368872	Frente a punta Catalán
25	28/06/95	A	T			Frente a la UQROO
26	6/07/95	E	L	2048567	368215	Frente a la UQROO
27	15/07/95	E	L	2048557	388014	Frente a la UQROO
28	25/07/95	A	L			Frente a la UQROO
29	11/08/95	A	L			Frente a la UQROO
30	16/08/95	A	L			Frente al muelle de la ciudad de Chetumal
31	22/08/95	R	L	2048634	367373	Frente a la UQROO
32	21/09/95	A	L			Frente a la UQROO
33	6/09/95	E	L	2048761	367188	Frente a la UQROO
34	6/10/95	A	L			Punta norte de isla Tamalcab
35	11/10/95	R	L	2052500	368500	Frente a punta Catalán
36	15/10/95	E	L	2047884	86454	Frente a la ciudad de Chetumal
37	19/11/95	A	L			Noreste de la UQROO
38	21/11/95	A	L			Frente a Calderitas
39	5/12/95	E	T	2047396	366877	Frente a la ciudad de Chetumal
40	12/12/95	E	T	2046319	366332	Frente a la ciudad de Chetumal
41	12/01/96	E	L	2048102	369471	Frente a la UQROO
42	23/01/96	E	L	2055089	372847	Costa exterior de isla Tamalcab, parte sur
43	14/02/96	R	L	2059900	375439	Costa exterior de isla Tamalcab, parte norte
44	26/02/96	E	L	2057162	373689	Costa exterior de isla Tamalcab, parte central
45	23/03/96	A	L			Punta norte de isla Tamalcab
46	18/04/96	A	L			Punta norte de isla Tamalcab
47	26/04/96	A	L			Centro de la bahía, entre Isla Tamalcab y cayos Dos Hermanos
48	9/05/96	A	L			Centro de la bahía, entre isla Tamalcab y cayos Dos Hermanos
49	16/05/96	E	L	2057151	1372393	Costa Interior de isla Tamalcab, parte central

\*Captura, macaje y liberación del manatí

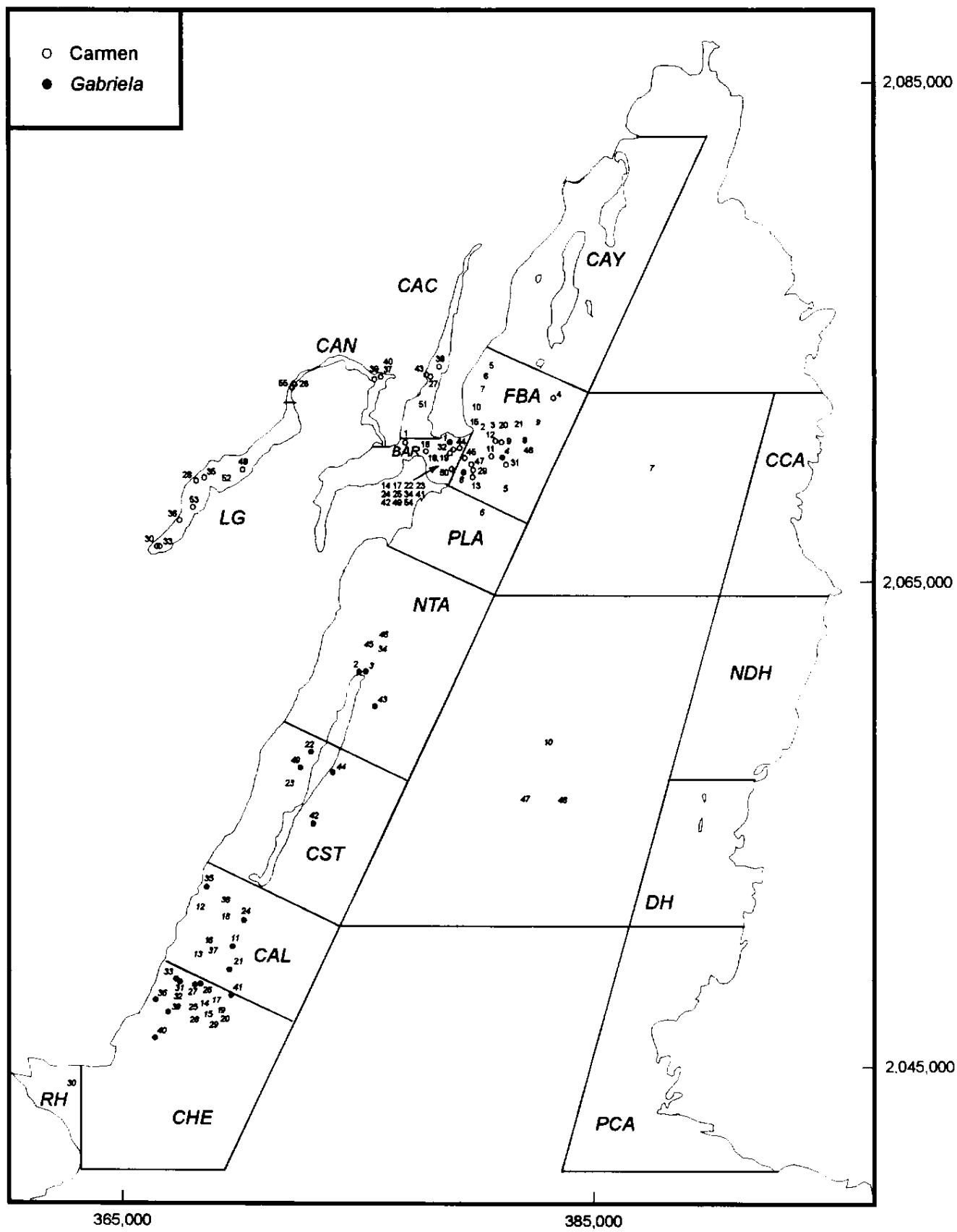


Figura 1. Ubicaciones de las hembras Carmen y Gabriela, en el periodo del 14 de noviembre de 1994 al 31 de mayo de 1996. Los números en *itálica*, representan las ubicaciones de Gabriela.

**Cuadro 3. Ubicaciones de la hembra Carmen, del 1o. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997.**

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
1	4/06/96	A	L			Barra	
2	3/07/96	R	L	2072021	375164	Canal de laguna Guerrero	Se observó con la cría durante 2 hs., a una distancia de entre 10 y 15 m
3	9/07/96	E	L	2074125	374071	Canal de laguna Guerrero	
4	11/07/96	A	L			Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
5	16/07/96	A	L			Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
6	18/07/96	A	L			Fuera de la Barra	
7	31/07/96	A	L			Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
8	2/08/96	A	L			Fuera de la Barra	
9	9/08/96	A	L			Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
10	10/08/96	R	L	2072874	375572	Canal de laguna Guerrero	
11	14/08/96	A	L			Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
12	3/09/96	R	L	2069213	369514	Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
13	4/09/96	R	L	2068683	368169	Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
14	13/09/96	A	L			Fuera de la Barra	
15	19/09/96	R	L	2068872	368081	Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
16	25/09/96	N	L			Esfuerzo realizado en Laguna Guerrero y en la Barra	
17	26/09/96	E	L	2069000	368600	Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
18	1/10/96	R	A	2070700	378900	Barra	Se observó en la Barra desde Helicóptero
19	8/10/96	N				Esfuerzo realizado en Laguna Guerrero	
20	10/10/96	R	L	2072980	372185	Canal de laguna Guerrero	Captura, reemplazo de sistema de transmisión y liberación del manatí
21	12/10/96	N	T			Esfuerzo realizado en Laguna Guerrero	
22	12/10/96	N	L			Esfuerzo realizado en la Barra	
23	18/10/96	E	L	2068550	368000	Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
24	25/10/96	E	L	2066350	366500	Frente al poblado de laguna Guerrero	
25	30/10/96	E	L	2068942	368623	Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	

Cuadro 3. Ubicaciones de la hembra Carmen, del lo. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997 (cont.).

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
26	18/12/96	A	L			Fuere de la Barra	
27	12/01/97	A	L			Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
28	30/01/97	A	L			Laguna Guerrero	
29	4/02/97	A	A			Barra	
30	14/02/97	R	L	2071800	372250	Entrada de laguna Guerrero	
31	15/02/97	A	L			Fuera de la Barra	
32	19/02/97	A	L			Barra, frente a la entrada de río Cacayuc	
33	25/02/97	A	L			Laguna Guerrero	
34	4/03/97	A	L			Frente al poblado de laguna Guerrero	
35	8/03/97	A	L			Laguna Guerrero	
36	12/03/97	E	L	2070290	380250	Fuera de la Barre	
37	1/04/97	A	L			Este de Cayo Venado	
38	8/04/97	N	L			Esfuerzo realizado en la Barra	
39	9/04/97	A	L			Laguna Guerrero, frente a poblado Raudales	
40	12/04/97	A	T			Frente al poblado de laguna Guerrero	
41	13/04/97	A	L			Entrada de laguna Guerrero	
42	17/04/97	E	L	2072249	381404	Sur de cayo Venado	
43	22/04/97	N	L			Esfuerzo realizado en la Barre y en Cacayuc	
44	30/04/97	A	L			Río Cacayuc	
45	5/05/97	A	L			Barra, entre la entrada a río Caoayuc y la entrada al canal	
46	19/05/97	N	T			Esfuerzo realizado en punta Polvox	
47	19/05/97	A	<sup>1</sup> A			Barra	
48	28/05/97	A	L			Suroeste de cayo Venado	
49	3/06/97	N	L			Esfuerzo realizado en Laguna Guerrero y en la Barra	
50	4/06/97	N	L			Esfuerzo realizado en la Barra	

Cuadro 3. Ubicaciones de la hembra Carmen, del lo. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997 (cont.).

Ino.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
51	20/06/97	A	L			Entrada de laguna Guerrero	
52	2/07/97	A	L			Fuera de la Barra, frente a punta Polvos	
53	10/07/97	A	L			Laguna Guerrero	
54	30/07/97	A	L			Entrada de laguna Guerrero	
55	6/08/97	E	L	2070902	371423	Laguna Guerrero	
56	14/08/97	A	L			Fuera de la Barra	
57	21/08/97	N	L			Esfuerzo realizado en la Barra	

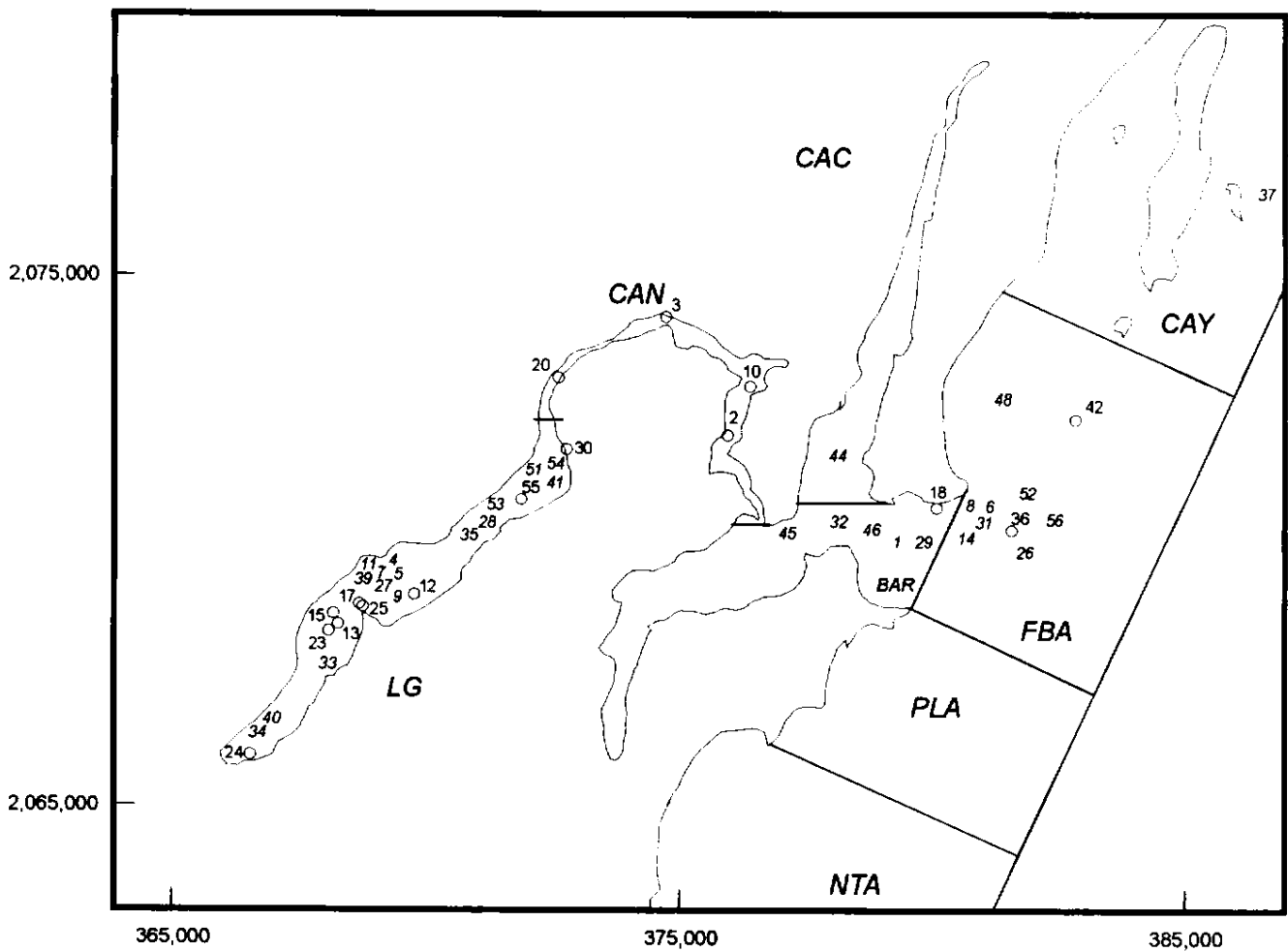


Figura 2. Ubicaciones de la hembra Carmen, del lo. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997. Los números en *itálicas* representan las ubicaciones a nivel de área general.

Cuadro 4. Ubicaciones de la hembra Gabriela, del 1o. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997.

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
1	4/06/96	N	L			Esfuerzo realizado en el interior norte de isla Tamalcab y hacia el noreste de la misma	
2	5/06/96	N	L			Esfuerzo realizado en el centro de la bahía, hacia los cayos Dos hermanos.	
3	6/06/96	N	L			Esfuerzo realizado en la Barra y hacia los cayos del norte	
4	18/06/96	N	T			Esfuerzo realizado en tierra, a lo largo del boulevard bahía, Chetumal	
5	19/06/96	N	L			Esfuerzo realizado en la boca del río Hondo	
6	25/06/96	N	L			Esfuerzo realizado en la boca del río Hondo	
7	3/07/96	N	L			Esfuerzo realizado al noreste de isla Tamalcab	
8	4/07/96	N	L			Esfuerzo realizado desde la punta norte de isla Tamalcab hasta el norte de los cayos	
9	5/07/96	E	L	2059870	374658	Norte de isla Tamalcab, costa exterior	
10	10/07/96	R	L	2044828	360548	Boca del río Hondo	
11	11/07/96	A	T			Boca del río Hondo	
12	12/07/96	R	L	2044678	360899	Boca del río Hondo	
13	16/07/96	N	L			Esfuerzo realizado en la boca del río Hondo	
14	17/07/96	A	L			Sur de la UQROO	
15	18/07/96	A	T			Frente a la UQROO	
16	23/07/96	E	L	2049299	366836	Norte de la UQR00	
17	25/07/96	E	L	2049731	366900	Norte de la UOROO	
16	1/08/96	N	T			Esfuerzo realizado frente a la uoROO	
19	16/08/96	E	L	2046732	366100	Sur de la UQROO	
20	27/08/96	E	L	2045043	363254	Frente a la ciudad de Chetumal, al lado izquierdo del muelle fiscal	
21	6/09/96	R	L	2044825	360802	Boca del río Hondo	
22	7/09/96	E	L	2045162	363783	Frente a la ciudad de Chetumal, al lado izquierdo del muelle fiscal	
23	12/09/96	N	L			Esfuerzo realizado desde la UQROO hasta la boca del río Hondo y alrededor de Tamalcab	
24	20/09/96	E	t	2048215	366720	Frente a la UQROO	
25	27/09/96	E	T	2048765	366519	Frente ala UQROO	

Cuadro 4. Ubicaciones de la hembra Gabriela, del 10. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997 (cont.).

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
26	8/10/96	E	T	2049455	366720	Norte de la UQROO	
27	9/10/96	E	L	2049373	367282	Norte de la UQROO	
28	23/10/96	A	L			Norte de la UQROO	
29	29/10/96	E	L	2047690	370225	Frente a la UQROO, hacia adentro de la bahía	
30	5/11/96	E	L	2050821	368025	Entre la UQROO y punta Catalán	
31	8/11/96	A	T			Frente al muelle de la ciudad de Chetumal	
32	9/11/96	N	T			Esfuerzo realizado por tierra desde el muelle de la ciudad hasta la UQROO	
33	10/11/96		T			Frente al muelle de la ciudad de Chetumal	
34	14/11/96	N	T			Esfuerzo realizado por tierra desde el muelle de la ciudad hasta la UQROO	
35	18/11/96	N	T			Esfuerzo realizado por tierra desde el muelle de la ciudad hasta la UQROO	
36	19/11/96	N	T			Esfuerzo realizado por tierra desde el muelle de la ciudad hasta la UQROO	
37	21/11/96	N	T			Esfuerzo realizado por tierra desde el muelle de la ciudad hasta la UQROO	
38	25/11/96	A	L			Noreste de punta norte de isla Tamalcab	
39	26/11/96	A	L			Costa exterior de isla Tamalcab, parte norte	
40	29/11/96	N	T			Esfuerzo realizado en la costa, frente a la punta norte de Isla Tamalcab	
41	1/12/96	A	L			Costa exterior de isla Tamalcab, parte central	
42	4/12/96	R	L	2056484	373258	Costa exterior de isla Tamalcab, parte central	
43	6/12/96	A	L			Punta sur de Tamalcab, costa exterior	
44	11/12/96	A	L			Sur de la UQROO	
45	12/12/96	A	L			Sureste del faro	
46	16/12/96	A	L			Sureste del faro	
47	14/01/97	N	L			Esfuerzo realizado alrededor de Tamalcab y hasta la boca del río Hondo	
48	28/01/97	N	L			Esfuerzo realizado desde la UQROO hasta New River, Belice	
49	29/01/97	N	L			Esfuerzo realizado en laguna San Román, río Hondo hasta la UQROO	
50	30/01/97	N	L			Esfuerzo realizado en punta norte de isla Tamalcab, Barra y laguna Guerrero	



Cuadro 4. Ubicaciones de la hembra Gabriela, del 10. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997 (cont.).

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
51	4/02/97	A	A	1		Sureste de cayo Venado	
52	06/02/97	E	L	2071900	381200	Suroeste de cayo Venado	
53	7/02/97	E	L	2068450	384150	Centro de la bahía, a la altura de punta Lagartos	
54	19/02/97	N	L			Esfuerzo realizado alrededor de cayo Venado y en la Barra	
55	25/02/97	N	L			Esfuerzo realizado frente a punta Catalán y por la costa externa de isla Tamalcab	
56	27/02/97	N	T			Esfuerzo realizado desde la UOROO hasta punta Estrella	
57	12/03/97	N	L			Esfuerzo realizado en punta norte de Tamalcab y en la boca de la Barra	
58	15/03/97	N	L			Esfuerzo realizado en la parte interior de isla Tamalcab	
59	18/03/97	N	L			Esfuerzo realizado en transado de sur de Tamalcab a caleta Calderas y en punta Calentura	
60	21/03/97	N	L			Esfuerzo realizado frente a la ciudad de Chetumal	
61	8/04/97	N	L			Esfuerzo realizado en la punta norte de Tamalcab	

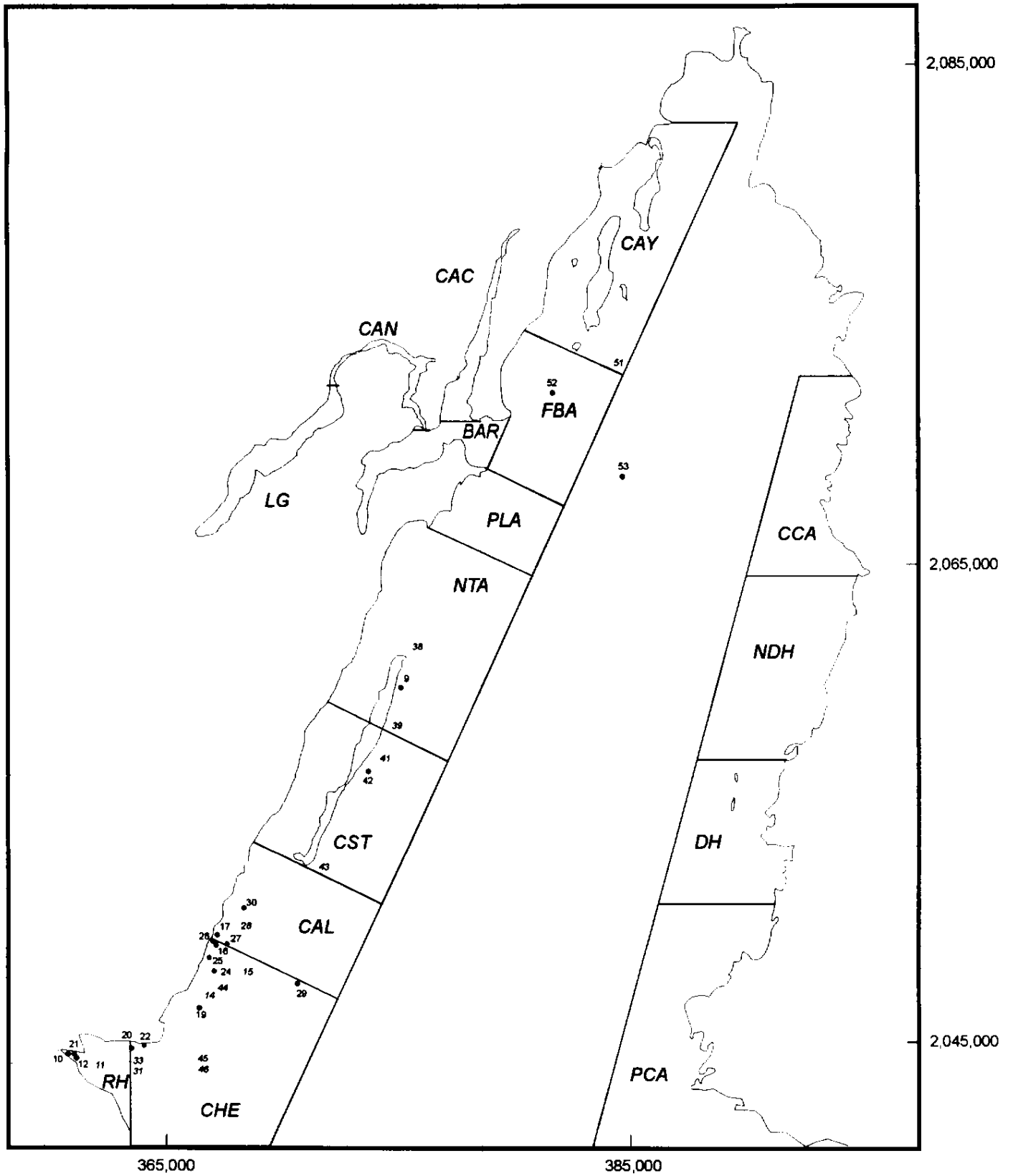


Figura 3. Ubicaciones de la hembra Gabriela, del 1o. de junio de 1996 al 31 de agosto de 1997. Los números en *italicas* representan las ubicaciones a nivel de área general.

Cuadro 5. Ubicaciones del macho Santiago, del 2 de octubre de 1996 al 3 de abril de 1997.

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
1	2/10/96	R	L	2069850	378350	Barra	Captura, marcaje y liberación del manatí
2	6/10/96	E	S	2066510	390010	Noroeste de caleta Calderas	Ubicación de satélite
3	8/10/96	N	T			Esfuerzo realizado en Laguna Guerrero	
4	9/10/96	N	L			Esfuerzo realizado en las puntas norte y sur de isla Tamalcab	
5	12/10/96	N	L			Esfuerzo realizado en puntas Lagarto y Polvox	
6	12/10/96	N	T			Esfuerzo realizado en Laguna Guerrero	
7	13/10/96	E	S	2046462	375963	Centro de la bahía, a la altura de la ciudad de Chetumal	Ubicación de satélite
8	29/10/96	N	L			Esfuerzo realizado al norte de isla Tamalcab	
9	5/11/96	N	L			Esfuerzo realizado desde la UQROO hasta punta norte de isla Tamalcab, por fuera	
10	7/11/96	N	L			Esfuerzo realizado desde la parte media interior de isla Tamalcab hasta el norte de la Barra	
11	22/11/96	E	S	2072389	388638	Oeste de punta Gorda	Ubicación de satélite
12	26/11/96	N	L			Esfuerzo realizado en punta Norte de Tamalcab	
13	5/12/96	E	S	2050913	386753	Norte de punta de Chávez	Ubicación de satélite
14	5/12/96	E	S	2050573	387190	Norte de punta de Chávez	Ubicación de satélite
15	6/12/96	N	L			Esfuerzo realizado al este de la punta sur de Isla Tamalcab	
16	6/12/96	E	S	2049058	383575	Noroeste de punta de Chávez	Ubicación de satélite
17	6/12/96	E	S	2049383	385600	Noroeste de punta de Chávez	Ubicación de satélite
18	7/12/96	E	S	2049501	381495	Centro de la bahía, a la altura del poblado Calderitas	Ubicación de satélite
19	8/12/96	E	S	2048956	380202	Centro de la bahía, a la altura del poblado Calderitas	Ubicación de satélite
20	9/12/96	E	S	2039122	379729	Suroeste de punta Calentura	Ubicación de satélite
21	10/12/96	E	S	2035606	376744	Noroeste de punta Rocky	Ubicación de satélite
22	11/12/96	E	S	2033093	370828	Este de Cerros	Ubicación de satélite
23	12/12/96	E	S	2033917	362793	Noreste de Cerros	Ubicación de satélite
24	13/12/96	E	S	2033708	361940	Noreste de Cerros	Ubicación de satélite
25	14/12/96	E	S	2032190	359405	Cerros	Ubicación de satélite

Cuadro 5. Ubicaciones del macho Santiago, del 2 de octubre de 1996 al 3 de abril de 1997 (cont.).

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
26	14/12/96	E	S	2031292	360250	Cerros	Ubicación de satélite
27	26/12/96	E	S	2031074	360659	Cerros	Ubicación de satélite
28	30/12/96	E	S	2030826	360863	Cerros	Ubicación de satélite
29	28/01/97	N	L			Esfuerzo realizado en New River, Belice	
30	18/03/97	N	L			Esfuerzo realizado frente a punta de Chávez y punta Calentura	
31	21/03/97	N	L			Esfuerzo realizado desde Cerros hasta punta Rocky y hacia el norte de esta	
32	24/03/97	N	L			Esfuerzo realizado en Cerros	Búsqueda del radio. No se escuchaba.
33	3/04/97	R	L	2031201	360073	Cerros	Se recuperó el radio transmisor que tenía Santiago

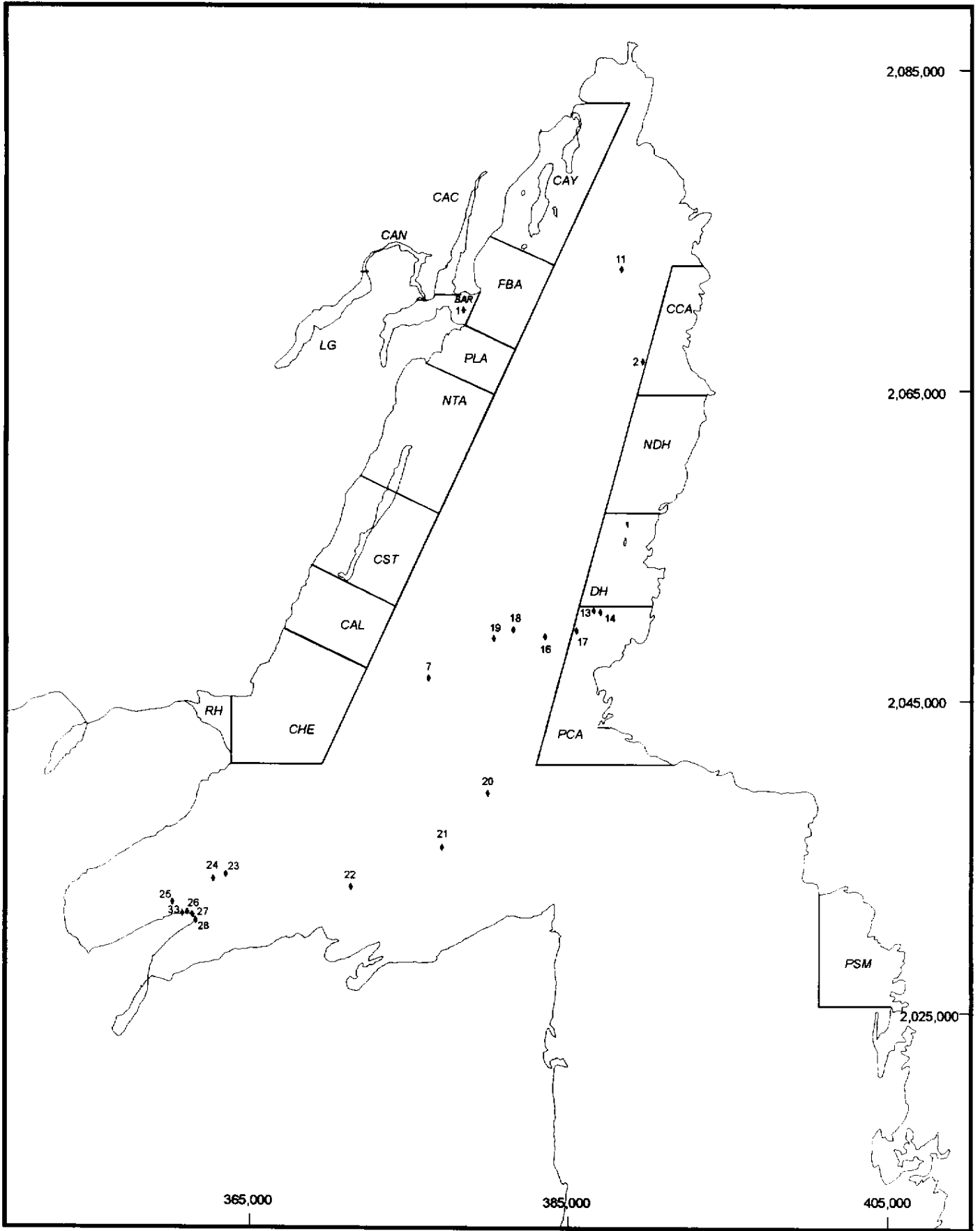


Figura 4. Ubicaciones del macho Santiago, del 2 de octubre de 1996 al 3 de abril de 1997.

Cuadro 6. Ubicaciones de la hembra Nikita, del 2 de octubre de 1996 al 31 de agosto de 1997.

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
1	2/10/96	R	L	2070500	377750	Barra	Captura, marcaje y liberación del manatí
2	8/10/96	N	L			Esfuerzo realizado en Laguna Guerrero	
3	9/10/96	N	L			Esfuerzo realizado en punta sur de isla Tamalcab	
4	12/10/96	N	T			Esfuerzo realizado en poblado Raudales	
5	12/10/96	A	L			Boca de la Barra	
6	29/10/96	N	L			Esfuerzo realizado al norte de isla Tamalcab	
7	5/11/96	N	L			Esfuerzo realizado desde la parte media de isla Tamalcab hasta el norte, por fuera	
8	7/11/96	N	L			Esfuerzo realizado desde la parte media interior de isla Tamalcab hasta el norte de la Barra	
9	26/11/96	N	L			Esfuerzo realizado en punta Norte de Tamalcab	
10	29/11/96	N	T			Esfuerzo realizado en la costa, frente a la punta norte de Isla Tamalcab	
11	6/12/96	N	L			Esfuerzo realizado alrededor de isla Tamalcab	
12	18/12/96	N	L			Esfuerzo realizado dentro y fuera de la Barra y en la entrada a Cacayuc	
13	29/01/97	N	L			Esfuerzo realizado frente al faro y frente a la UQROO	
14	30/01/97	N	L			Esfuerzo realizado en punta norte de isla Tamalcab, Barra y laguna Guerrero	
15	4/02/97	A	A			Punta Calentura	
16	12/02/97	R	L	2053168	390138	Sureste de cayos Dos Hermanos	
17	18/03/97	E	L	2049100	387950	Noreste de punta de Chávez	
18	10/04/97	A	L			Entre caleta Calderas y Siete Esteros	
19	15/04/97	E	L	2053384	389992	Sureste de cayos Dos Hermanos	
20	23/04/97	A	L			Cerca de punta Siete Mogotes	
21	2/05/97	A	L			Entre caleta Calderas y cayos Dos hermanos	
22	29/05/97	R	L	2051236	389481	Sureste de cayos Dos Hermanos	
23	9/07/97	N	L			Esfuerzo realizado desde norte de 2 Hermanos hasta punta Calentura	
24	10/07/97	N	L			Barra	
25	23/07/97	N	L			Esfuerzo realizado desde punta Consejo por la costa de Belice hasta punta Calentura	

Cuadro 6. Ubicaciones de la hembra Nikita, del 2 de octubre de 1996 al 31 de agosto de 1997 (cont.).

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
26	24/07/97	E		2053328	390657	Sureste de cayos Dos Hermanos	
27	7/08/97	N	L			Esfuerzo realizado en cayos Dos Hermanos, al sur y al norte de éstos	
28	22/08/97	N	L			Esfuerzo realizado en cayos Dos Hermanos y al sur de estos	
29	29/08/97	N	L			Esfuerzo realizado desde Caleta Calderas hasta Punta Calentura	

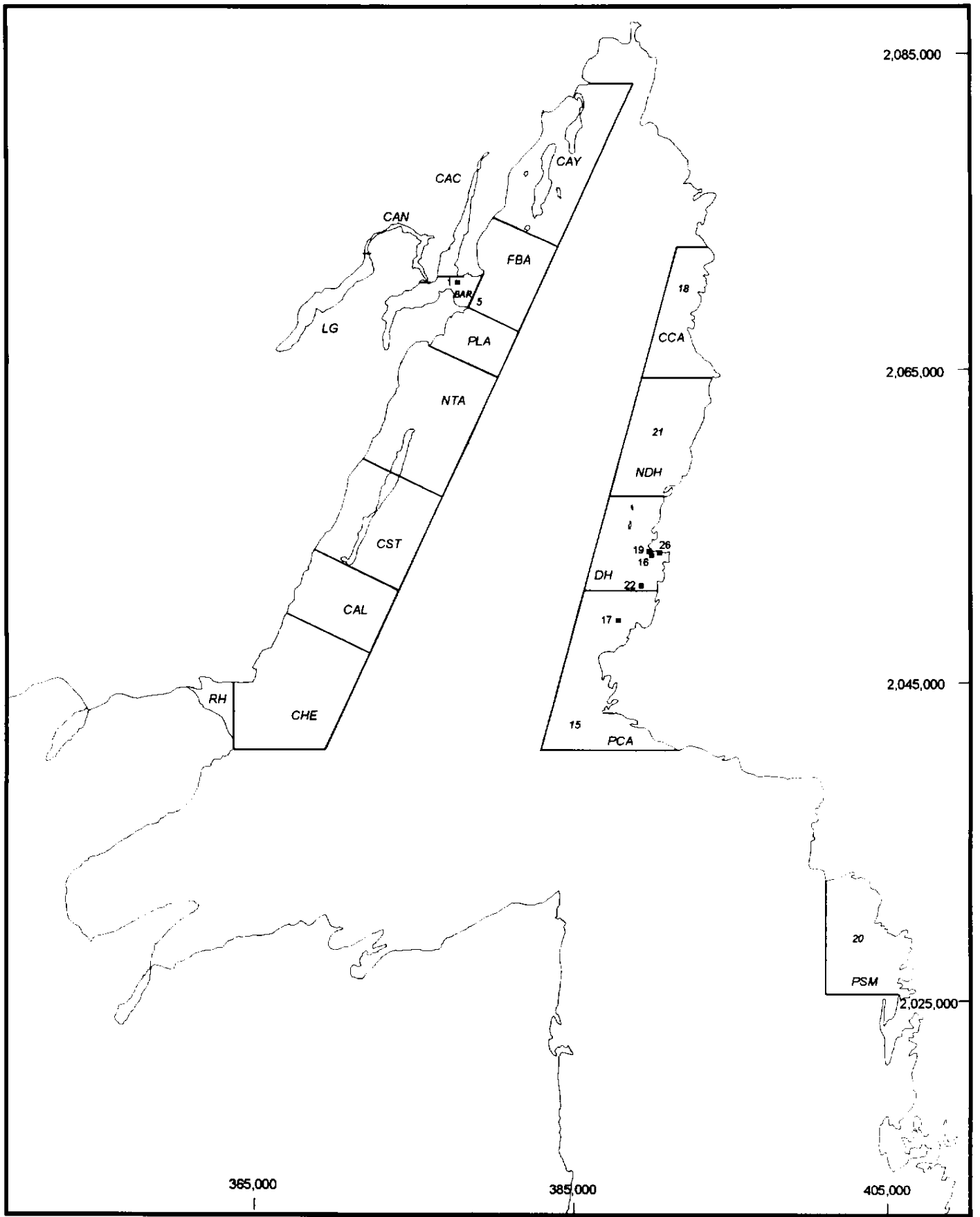


Figura 5. Ubicaciones de la hembra Nikita, del 2 de octubre de 1996 al 31 de agosto de 1997. Los números en *italicas* representan las ubicaciones a nivel de área general.



Cuadro 7. Ubicaciones de la hembra Cecilia, del 5 de octubre de 1996 al 8 de abril de 1997.

No	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
1	5/10/96	R	L	2072000	377700	Río Cacayuc	Captura, marcaje y liberación del manatí
2	8/10/96	N	T			Esfuerzo realizado en Laguna Guerrero	
3	9/10/96	A	L			Noroeste de punta norte de isla Tamalcab	
4	12/10/96	N	T			Esfuerzo realizado en poblado Raudales	
5	12/10/96	A	L			Río Cacayuc	
6	29/10/96	N	L			Esfuerzo realizado al norte de isla Tamalcab	
7	5/11/96	N	L			Esfuerzo realizado desde la parte media de isla Tamalcab hasta el norte, por fuera	
8	7/11/96	N	L			Esfuerzo realizado desde la parte media interior de isla Tamalcab hasta el norte de la Barra	
9	26/11/96	N	L			Esfuerzo realizado en punta Norte de Tamalcab	
10	6/12/96	N	L			Esfuerzo realizado alrededor de la punta norte de isla Tamalcab	
11	18/12/96	N	L			Esfuerzo realizado dentro y fuera de la Barra y en la entrada a Cacayuc	
12	29/01/97	N	L			Esfuerzo realizado en laguna San Román, frente al faro y frente a la UOROO	
13	30/01/97	A	L			Fuera de la Barra	
14	4/02/97	A	A			Noreste de isla Tamalcab	
15	6/02/97	A	L			Sur de punta Lagarto	
16	7/02/97	N	L			Esfuerzo realizado en la Barra y de punta Lagartos hasta el extremo interior norte de isla Tamalcab	
17	19/02/97	A	L			Noreste de isla Tamalcab	
18	7/03/97	A	L			Entre punta Polvox y cayo Venado	
19	12/03/97	A	L			Frente a punta Lagartos	
20	15/03/97	N	L			Esfuerzo realizado en la parte interior de isla Tamalcab	
21	8/04/97	R	L	2076165	384386	Este de cayo Palometa	Se recuperó el radio transmisor que tenía Cecilia

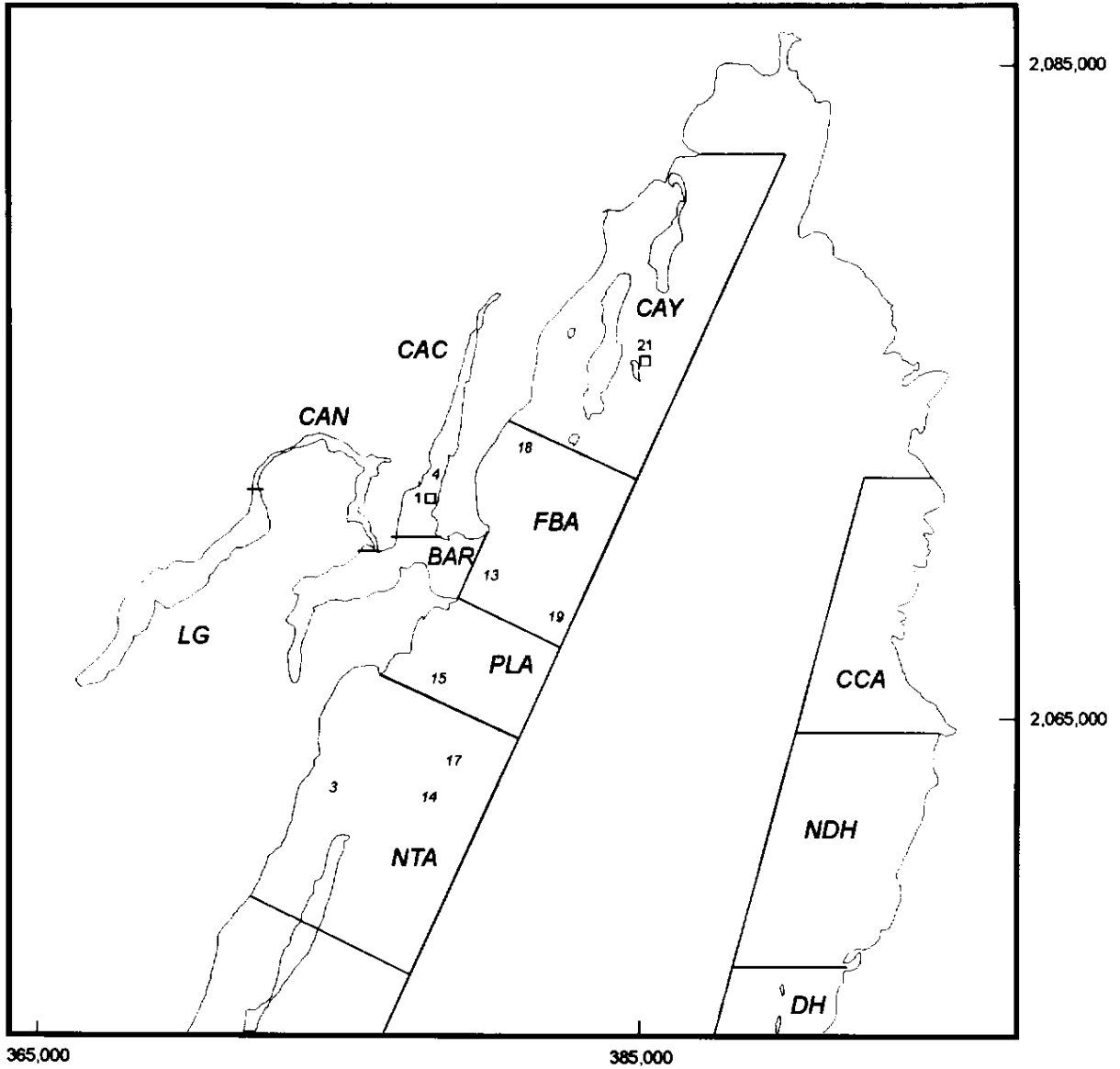


Figura 6. Ubicaciones de la hembra Cecilia, del 5 de octubre de 1996 al 8 de abril de 1997. Los números en *itálicas* representan las ubicaciones a nivel de área general.

Cuadro 8. Ubicaciones de la hembra Janneth, del 17 de mayo al 31 de agosto de 1997.

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
1	17/05/97	R	L	2074114	f 378253	Río Cacayuc	Captura del manatí
2	18/05/97	R	T	2070787	379286	Punta Polvos	Marcaje y liberación del manatí
3	19/05/97	A	T			Barra	
4	28/05/97	A	L			Barra	
5	3/06/97	A	L			Barra	
6	4/06/97	R	L	2070360	378785	Barra	
7	20/06/97	A	L			Barra	
8	2/07/97	E	L	2070406	378067	Barra	
9	10/07/97	R	L	2069873	378050	Barra	
10	30/07/97	A	L			Barra	
11	6/08/97	R	L	2070149	378140	Barra	
12	13/08/97	R	L	2070115	378579	Barra	
13	14/08/97	E	L	2070451	379661	Barra	
14	21/08/97	A	L			Barra	

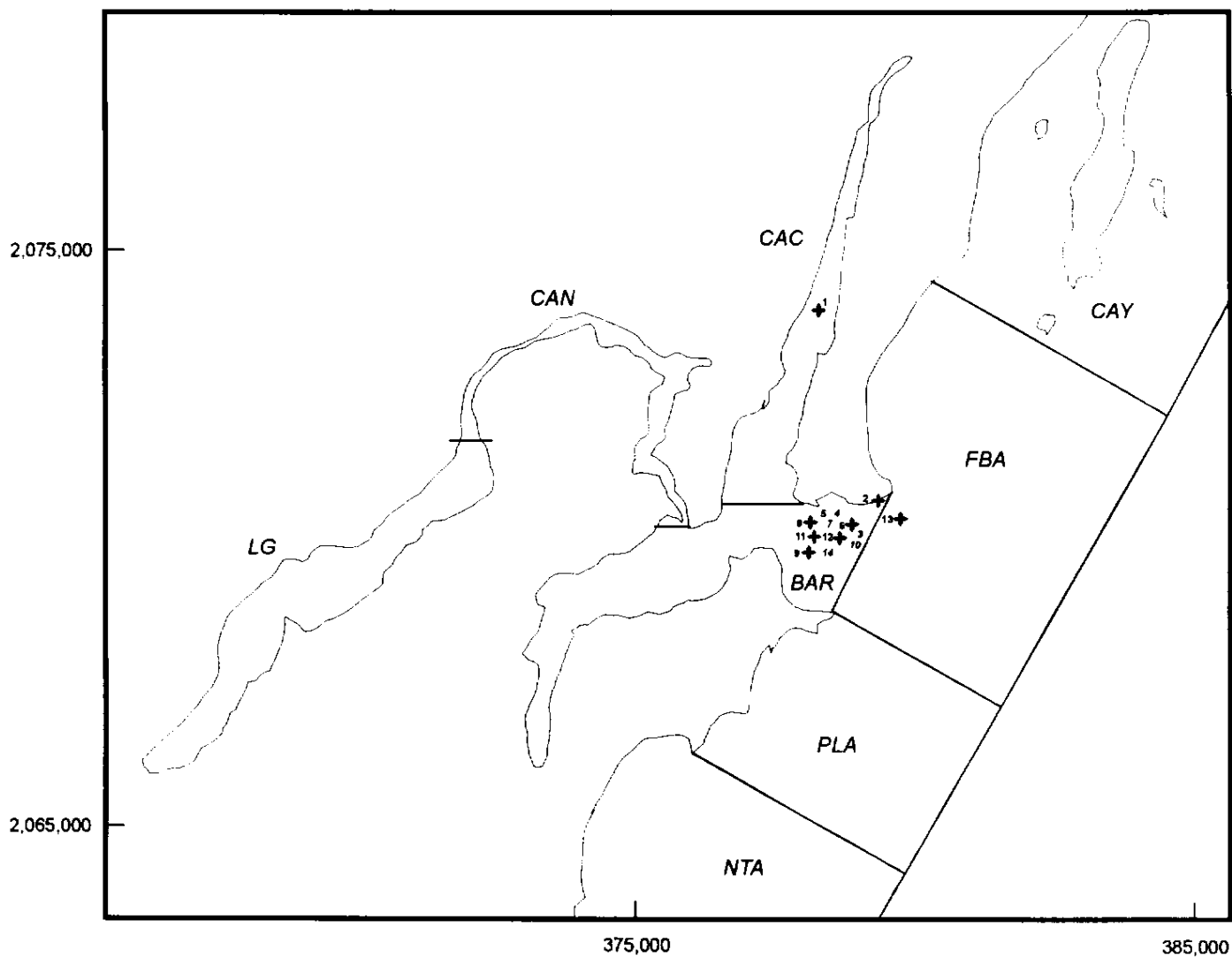


Figura 7. Ubicaciones de la hembra Janneth, del 17 de mayo al 31 de agosto de 1997. Los números en *itálicas* representan las ubicaciones a nivel de área general.

Cuadro 9. Ubicación del macho Popeye y esfuerzos de búsqueda, del 18 de mayo al 31 de agosto de 1997.

No.	Fecha	P	M	Latitud	Longitud	Area	Comentarios
1	18/05/97	R	L	2073562	378074	Río Cacayuc	Captura, marcaje y liberación del manatí
2	19/05/97	N	T			Esfuerzo realizado en punta Polvox	
3	28/05/97	N	L			Esfuerzo realizado en la Barra	
4	29/05/97	N	L			Esfuerzo reatado en la punta norte de isla Tamalcab	
5	3/06/97	N	L			Esfuerzo reatado en la Barra, canales y laguna Guerrero	
6	4/06/97	N	L			Esfuerzo reatado en la Baria, sur de cayo Venado y punta Lagartos	
7	3/07/97	N	L			Esfuerzo realizado en isla Tamalcab, frente a la UQROO, boca de río Hondo, laguna San Román	
8	23/07/97	N	L			Esfuerzo realizado desde punta Consejo por la costa de Belice hasta punta Calentura	
9	24/07/97	N	L			Esfuerzo reatado en Punta Calentura y sur de cayos 2 Hermanos	

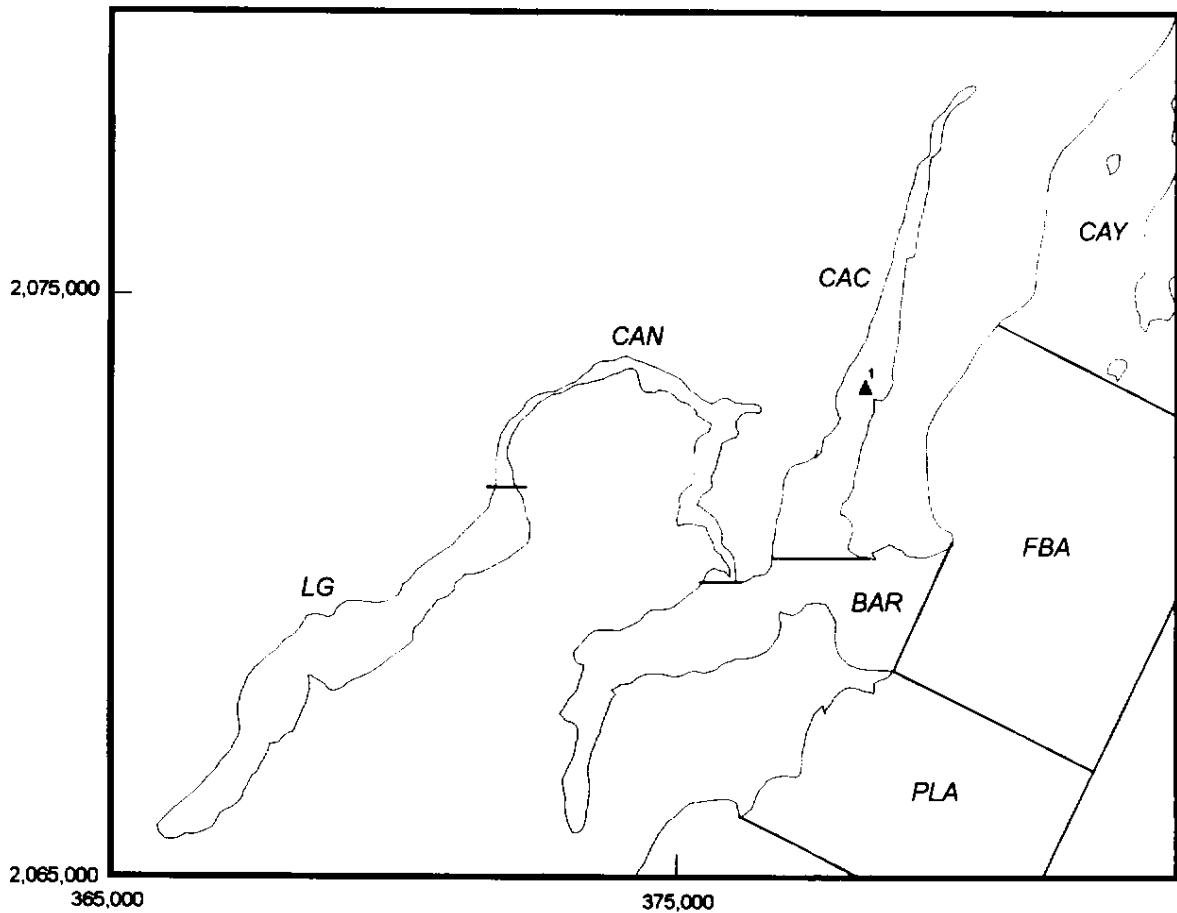


Figura 8. Ubicación del macho Popeye, del 18 de mayo de 1997.

## **APENDICE II. Tabla de secuencias genéticas**

En el presente apéndice se presenta el contenido de la tabla "Genetica" con los siguientes datos: Número consecutivo (No.), clave técnica del manatí muestreado, nombre del manatí, sexo, longitud del manatí en cm, localidad de colecta, fecha de la colecta, tipo de tejido colectado, haplotipo mitocondrial (HM), genotipo DQ(i (G. DQj), tipo de secuencia y secuencia.

Los datos que no se obtuvieron, se capturaron como "ND" (no definido).

Tabla "Genetica"

No.	clave técnica	nombre	sexo	long. (cm)	localidad	fecha	tejido	HM	G. DQβ	tipo de secuencia	secuencia
1	MCH-002	ND	H	215	Catazajá, Chiapas	1/06/95	sangre	J	0304	mitocondrial	TTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTAATTCGTGCATTATGTGCTCC TGCCCATATAGTACTATCTATGTTTTATCTTACATACACCATCCTATGTATMT CGTACATTACATTATATACCCCATGCTTACAAGCAAGTACAGTATAMTMTGC TTCTAGACAGTATATACCTTCCACTGCAMTTCCCMCCACATGGATATTCTTC AGTCCATTACCTCTTMTATTGCATMTACATTACACTCCTTMTCGTACATA GCACATCACTTGAATCATTCTCGCCMCATGCTTATCACCTCCATTAGGCAG TCCCTMCTACCAAGCGCCGAGAAACCAGCAACCCGCCCTCATTTTGTCCCT CTTCTCGCTCCGGGCCATAACTTGTGGGGGTGT
2	MCH-003	ND	M	197	Catazajá, Chiapas	210695	sangre	J	ND	mitocondrial	TTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTMTCGTGCATTATGTGCTCC TCCCATATAGTACTATCTATGTTTTATCTTACATACACCATCCTATOTATMT CGTACATTACATTATATACCCCATGCTTACMGCMGTACAOTATAAATMTGC TTCTAGACAGTATATACCTTCCACTGCAAATTCMCCACATGGATATTCTTC AGTCCATTACCTCTTMTATTGCATMTACATTACACTCCTTMTCGTACATA GCACATCACTTGAATCATTCTCGCCMCATGCTTATCACCTCCATTAGOCAG TCCCTMCTACCAAGCGCCGAGA ACCAGCMCCCGCCCTCATTTTGTCCCT CTTCTCGCTCCGGGCCATMCTTGTG000TGT
3	MCH-004	ND	M	214	Catazajá, Chiapas	2/06/95	sangre	J	0304	Mitocondrial	TTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTMTCGTGCATTATGTOCTCC TCCCATATAGTACTATCTATGTTTTATCTTACATACACCATCCTATOTATMT COTACATTACATTATATACCCCATGCTTACMGCMGTACAGTATAAATMTGC TTCTAGACAGTATATACCTTCCACTGCAAATTCMCCACATGGATATTCTTC AGTCCATTACCTCTTMTATTGCATMTACATTACACTCCTTMTCGTACATA GCACATCACTTGAATCATTCTCGCCMCATGCTTATCACCTCCATTAGGCAG TCCCTMCTACCMGCGCCGAGAAACCAGCMCCCGCCCTCATTTTGTCCCT CTTCTCGCTCCGGGCCATMCTTGTGGGGGTGT
4	MCH-004	ND	M	214	Catazajá, Chiapas	2/06/95	sangre	J	0304	nucleotidica DQβ	TGACGGTGCGGNTGTGTACATACACTCTATMCCGGGAGGAAACGCGCGCTT CGACAGCNACGTGGGNANTNCGTGGCGCTGANCCGCTGGGGCGCCGG ACGCCNAGTACTGGMCANCCNGCANGGGACCTCCTGGANGAGNATCGGGC CTATGTGACACGGTGTGCAAACACMCTACCAGACCCTTNNCNCNTNNATT CCCTCNCNTACCTNNTGOGNATTTNTN
5	MCH-004	ND	M	214	Catazajá, Chiapas	2/06/95	sangre	J	0304	Peptidica DQβ	DGA7VYIH5ITGRKRALRQ7RG77RGA77AOMGR?VLE?PA?DLL7E7RAY DTVC KHNYQTL???
6	MCH-005	ND	H	211	Catazajá, Chiapas	2/06/95	sangre	J	0102	mitocondrial	TTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTMTCGTGCATTATGTGCTCC TCCCATATAGTACTATCTATGTTTTATCTTACATACACCATCCTATGTATMT CGTACATTACATTATATACCCCATGCTTACMGCMGTACAGTATAAATMTGC TTCTAGACAGTATATACCTTCCACTGCAAATTCMCCACATGGATATTCTTC AGTCCATTACCTCTTMTATTGCATAATACATTACACTCCTTMTCGTACATA GCACATCACTTGAATCATTCTCGCCMCATGCTTATCACCTCCATTAGGCAG TCCCTMCTACCMGCGCCGAGAAACCAGCMCCCGCCCTCATTTTGTCCCT CTTCTCGCTCCGGGCCATMCTTGTGGGGGTGT

Tabla "Genetica" (cont.)

No.	clave técnica	nombre	sexo	long. (cm)	localidad	fecha	tejido	HM	G. DQβ	tipo de secuencia	secuencia
7	MCH-009	ND	H	265	Catezajá, Chiapas	3/06/95	sangre	J	0101	mitocondrial	TTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTAATTCGTGCATTATGTGCTCC TCCCATATAGTACTATCTATGTTTTATCTTACATACACCATCCTATGTATAAT CGTACATTACATTATATACCCCATGCTTACAAGCAAGTACAGTATAAATAATGC TTCTAGACAGTATATACCTTCCACTGCMATTCCEAACCCACATGGATATTCTTC AGTCCATTACCTCTTAATATTGCATAATACATTACACTCCTTMTCGTACATA GCACATCACTTAAATCATTCTCGCCMCATGCTTATCACCTCCATTAGGCAG TCCCTMCTACCMGGCCGAGAAACCAGCAACCCGCCCTCATTTTGTCCCT CTTCTCGCTCCGGGCCATAAATTGTGGGGGTGT
8	TQR-001	Carmen	H	290	Chetumal, Quintana Roo	10/10/96	sangre	Y	0103	mitocondrial	TTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTMTCGTGCATTATGTGTTCT TCCCATATAGTACTATCTATGTTTTMTCTTACATAr'A CATCCTATGTATAAT CGTACATTACACTACATACCCCATGCTTATMGMGTACAGTATGAGTAATG CTCCTAGACAGTATATACCTTCCACTGCAGATTCCCAACCACATGGATATTCT TCAGTCCATTCACTTGTGATATTGCATAGCACATCATGCTCCTTMTCGTAC ATAOCACATTACTTGMATCATCCTCGTCAACATGCTTATCACCTCCATTAOG CAGTCTTGATACCMGGCCGAGAAACCAGCMCCCGCCCTCATTTTGTCT CCTTCTCGCTCCGGGCCATAAATTGTGGGGGTGT
9	TQR-002	Gabriela	H	301	Chetumal, Quintana Roo	17/11/94	sangre	J	0101	Mitocondrial	TTAAACTACTCCCTOTACGGCTATGTMTCGTGCATTATGTGCTCCTCCCA TATAGTACTATCTATGTTTTATCTTACATACACCATCCTATGTATMTCGTACA TTACATTATACCCCATGCTTACMGMGTACAGTATAAATMTGCTTCTAG ACAGTATACCTTCCACTGCAAATTCCCMCCACATGGATATTCTTCAGTCC ATTCACCTCTTMTATTGCATMTACATTACACTCCTTMTCGTACATAGCACA TCACTTGAATCATTCTCGCCMCATGCTTATCACCTCCATTAGGCAGTCCCT AACTACCAAGCGCCGAGAAACCAGCMCCCGCCCTCATTTTGTCCCTCTTCT CGCTCCGGGCCATMCTTGTGGGGGTGT
10	TQR-003	Santiago	M	265	Chetumal, Quintana Roo	2/10/96	sangre	ND	0101	Mitocondrial	NO
11	TQR-004	Nikita	H	276	Chetumal, Quintana Roo	2/10/96	sangre	A	0101	Mitocondrial	CCCTGTACGGCTATGTMTCGTGCATTATGTGTTCTTCCCATATAOACTA TCTATOTTTMTCTTACATACACCATCCTATGTATMTCGTACATTACACTACA TACCCCATGCTTATMGMGTACAGTATGAGTMTGCTCCTAGACAGTATAT ACCTTCCACTGCAGATTCCCAACCACATGGATATTCTTCAGTCCATTCTTCC TTGATATTGCATAGCACATCATGCTCCTTMTCGTACATAGCACATTACTTGM ATCATCCTCGTMCATGCTTATCACCTCCATTAGGCAGTCCCTTGATCACCM GCGCCOAGAAACCAGCMCCCGCCCTCATCTTGTCCCTCTTCTCGCTCCGG GCCATMCTTGTGGGGGTGT
12	TQR-005	Cecilia	H	285	Chetumal, Quintana Roo	5/10/96	sangre	A	0101	mitocondrial	CTACTCCCTGTACGGCTATGTMTCGTGCATTATGTOITCTTCCCATATAG TACTATCTATGTTTTMTCTTACATACACCATCCTATGTATMTCGTACATTACA CTACATACCCCATGCTTATMGMGTACAGTATGAGTMTGCTCCTAGACAG TATATACCTTCCACTGCAGATTCCCMCCACATOGATATTCTTCAGTCCATT ATTCTTGTATATTGCATAGCACATCATGCTCCTTMTCGTACATAGCACATTAC TTGAAATCATCCTCGTMCATGCTTATCACCTCCATTAGGCAGTCCCTTGATC ACCAAGCGCCGAGAMCCAGCMCCCGCCCTCATCTTGTCCCTCTTCTCGCT CCGGOCCCATMCTTGTGGGGGTGT



Tabla "Genetica" (cont.)

No.	clave técnica	nombre	sexo	long. (cm)	localidad	fecha	tejido	H M	G. DQ $\beta$	tipo de secuencia	secuencia
13	TQR-006	Janneth	H	280	Chetumal, Quintana Roo	17/05/97	sangre	Y	ND	mitocondrial	TTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTAATTCGTGCATTATGTGTTCT TCCCATATAGTACTATCTATGTTTAACTTACATACACCATCCTATGTATAAT CGTACATTACACTACATACCCCATGCTTATAAGCAAGTACAGTATGAGTAATG CTCCTAGACAGTATATACCTTCCACTGCAGATTCCAACCACATGGATATTCT TCAGTCCATTCATTCCCTTGATATTGCATAGCACATCATGCTCCTTAATCGTAC ATAGCACATTACTTGAAATCATCCTCGTCAACATGCTTATCACCTCCATTAGG CAGTCCTTGATCACCAAGCGCCGAGAAACCAGCAACCCGCCCTCATTTTGTG CCTCTTCTCGCTCCGGGCCATAACTTGTGGGGGTGT
14	MQR-001	Daniel	M	274	Chetumal, Quintana Roo	3/10/96	sangre	J	0101	mitocondrial	TTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTAATTCGTGCATTATGTGCTCC TCCCATATAGTACTATCTATGTTTTATCTTACATACACCATCCTATGTATAAT CGTACATTACATTATATACCCCATGCTTACAAGCAAGTACAGTATAAATAATGC TTCTAGACAGTATATACCTTCCACTGCAAAATCCAACCACATGGATATTCTTC AGTCCATTACCTCTTAATATTGCATAATACATTACACTCCTTAATCGTACATA GCACATCACTTGAAATCATTCTCGCCAACATGCTTATCACCTCCATTAGGCAG TCCCTAACTACCAAGCGCCGAGAAACCAGCAACCCGCCCTCATTTTGTCCCT CTTCTCGCTCCGGGCCATAACTTGTGGGGGTGT
15	MQR-002	Bertha	H	273	Chetumal, Quintana Roo	5/10/96	sangre	Y	0102	mitocondrial	CTACTCCCTGTACGGCTATGTAATTCGTGCATTATGTGTTCTTCCCATATAG TACTATCTATG1TTAATCTTACATACACCATCCTATGTATAATCGTACATTACA CTACATACCCCATGCTTATAAGCAAGTACAGTATGAGTAATGCTCCTAGACAG TATATACCTTCCACTGCAGATTCCAACCACATGGATATTCTTCAGTCCATTTC ATTCCCTTGATATTGCATAGCACATCATGCTCCTTAATCGTACATAGCACATTAC TTGAAATCATCCTCGTCAACATGCTTATCACCTCCATTAGGCAGTCCTTGATC ACCAAGCGCCGAGAAACCAGCAACCCGCCCTCATTTTGTCCCTCTTCTCGCT CCGGGCCATAACTTGTGGGGGTGT
16	MQR-003	Rodrigo	M	179	Chetumal, Quintana Roo	10/11/96	sangre	Y	0101	mitocondrial	TTCTACTTAAACTACTCCCTGTACGGCTATGTAATTCGTGCATTATGTGTTCT TCCCATATAGTACTATCTATGTTTAACTTACATACACCATCCTATGTATAAT CGTACATTACACTACATACCCCATGCTTATAAGCAAGTACAGTATGAGTAATG CTCCTAGACAGTATATACCTTCCACTGCAGATTCCAACCACATGGATATTCT TCAGTCCATTCATTCCCTTGATATTGCATAGCACATCATGCTCCTTAATCGTAC ATAGCACATTACTTGAAATCATCCTCGTCAACATGCTTATCACCTCCATTAGG CAGTCCTTGATCACCAAGCGCCGAGAAACCAGCAACCCGCCCTCATTTTGTG CCTCTTCTCGCTCCGGGCCATAACTTGTGGGGGTGT