



**GENÉTICA DE LA CONSERVACIÓN EN *Alouatta palliata mexicana*: EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA FRAGMENTACIÓN DEL HÁBITAT Y SUS POBLACIONES EN VERACRUZ**

**TESIS QUE PRESENTA LAURA ELISA ARGÜELLO SÁNCHEZ  
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS**

**CONSERVACIÓN**

**Xalapa, Veracruz, México 2012.**

---





## Aprobación final del documento final de tesis de grado:

Título de la tesis en comillas:

**“Genética de la conservación en *Alouatta palliata mexicana*: Evaluación del efecto de la fragmentación del hábitat y sus poblaciones en Veracruz”**

|                 | Nombre                                      | Firma   |
|-----------------|---|---|
| Director        | Dr. Juan Carlos Serio Silva                 |  |
| Co-director     | Dr. Luis Manuel García Fera                 |  |
| Comité Tutorial | Dr. Alejandro Espinosa de los Montero Solís |  |
|                 | Dr. Daniel Piñero Dalmau                    |  |
| Jurado          | Dra. Carla Rodríguez Gutiérrez              |  |
|                 | Dra. Jessica Lynch Alfaro                   |  |



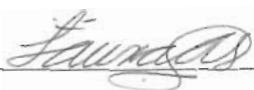
---

## DECLARACIÓN

Excepto cuando es explícitamente indicado en el texto, el trabajo de investigación contenido en esta tesis fue efectuado por la Biól. Laura Elisa Argüello Sánchez como estudiante de la carrera de Maestro en Ciencias entre septiembre de 2010 y agosto de 2012, bajo la supervisión del Dr. Juan Carlos Serio Silva y el Dr. Luis Manuel García Fera.

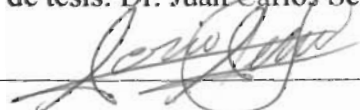
Las investigaciones reportadas en esta tesis no han sido utilizadas anteriormente para obtener otros grados académicos, ni serán utilizadas para tales fines en el futuro.

Candidato: Biól. Laura Elisa Argüello Sánchez



---

Director de tesis: Dr. Juan Carlos Serio Silva



---

Co-director de tesis: Dr. Luis Manuel García Fera



---



## **RECONOCIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (No. 370572)

A FOMIX-VERACRUZ CONACYT por el financiamiento del proyecto (No. 108865) “Efecto de la perturbación del hábitat sobre la estructuración y variabilidad genética de las poblaciones de *Alouatta palliata*: una especie en peligro de extinción en Veracruz, México”.

Al Instituto de Ecología, A.C. por el apoyo recibido durante el curso de mi maestría.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis directores de tesis, Dr. Juan Carlos Serio Silva y Dr. Luis Manuel García Feria, por su apoyo incondicional durante todo el proyecto de investigación

Al Dr. Alejandro Espinosa de los Monteros por el gran apoyo brindado en el laboratorio.

Al Dr. Daniel Piñero Dalmau por sus importantes sugerencias al trabajo.

Al M.C. Antonio A Vásquez Aguilar por su apoyo en laboratorio.

A las personas que me acompañaron en las salidas al campo: Luis García Feria, Antonio Vázquez Blanco, Jocelyn, Norma, Natalia, John y Fran.

A Rocío Rodríguez Figueroa por su apoyo con los trámites necesarios para las salidas de campo y congresos.

A mis amigos Jonás, Pablo, Yoco, Amauri, Natalia, Camila, Brendita, Brendota, John por todo su apoyo y buenos momentos compartidos.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, que en todo momento han estado a mi lado, a quienes admiro profundamente y sin quien no habría podido llegar hasta aquí, los amo.

A mis dos cómplices a quienes también admiro mucho... mis hermanos Alex y Alán, ¡gracias por todo su apoyo!

A Ricardo, quien fue parte importante de esta etapa de mi vida.



## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| <b>RESUMEN</b> .....   | 10 |
| <b>CAPITULO I</b> .....  | 11 |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....   | 11 |
| 1.1. La fragmentación de las selvas y su impacto en las poblaciones de primates.   | 11 |
| 1.2. Mono Aullador de Manto ( <i>Alouatta palliata mexicana</i> ).....   | 13 |
| 1.3. <i>Alouatta palliata mexicana</i> en Veracruz .....   | 14 |
| 1.4. La genética como herramienta para la conservación de los primates.....  | 15 |
| <b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....   | 17 |
| <b>3. OBJETIVOS</b> .....  | 18 |
| 3.1. Objetivo general.....   | 18 |
| 3.2. Objetivos particulares .....  | 18 |
| <b>4. HIPOTESIS</b> .....  | 19 |
| <b>CAPITULO II</b> .....   | 20 |
| Evaluación del estado genético en las poblaciones de <i>Alouatta palliata mexicana</i> en Veracruz,<br>por el posible efecto de la fragmentación del hábitat |    |
| RESUMEN.....   | 22 |
| INTRODUCCIÓN .....   | 23 |
| MÉTODOS.....   | 24 |
| RESULTADOS .....   | 28 |
| DISCUSIÓN .....  | 30 |
| REFERENCIAS.....   | 37 |
| <b>CAPITULO III</b> .....  | 56 |
| DISCUSION Y CONCLUSION GENERAL .....   | 56 |
| <b>REFERENCIAS CAPITULOS I Y III</b> .....   | 59 |

## LISTA DE CUADROS

### CAPITULO II

|  |    |
|--|----|
| <b>CUADRO I.</b> Número de muestras amplificadas de un fragmento de 331 pb del Cit b de pelo de <i>Alouatta palliata mexicana</i> por localidad y condición de hábitat en el sur de Veracruz, México....   | 47 |
| <b>CUADRO II.</b> Número de haplotipos de un fragmento del Cit b de <i>A. palliata mexicana</i> , sitios segregados y su frecuencia absoluta en cuatro regiones geográficas de Veracruz. ....  | 48 |
| <b>CUADRO III.</b> Descriptores de la variabilidad genética y comportamiento poblacional de <i>A. palliata mexicana</i> en cuatro regiones de Veracruz .....   | 49 |
| <b>CUADRO IV.</b> Índice de fijación ( $F_{ST}$ ) y estructura genética por Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para el fragmento de Cit b de poblaciones de monos aulladores de manto ( <i>A. palliata mexicana</i> ) para cuatro regiones de Veracruz, México. .... | 50 |
| <b>CUADRO V.</b> Índice de fijación genética $F_{ST}$ y numero de migrantes $Nm$ entre pares de poblaciones de <i>A. palliata mexicana</i> . ....  | 51 |

## LISTA DE FIGURAS

### CAPITULO II

|   |    |
|---|----|
| <b>FIGURA 1.</b> Ubicación de las cuatro regiones geográficas muestreadas para <i>A. palliata mexicana</i> en Veracruz.....                             | 52 |
| <b>FIGURA 2.</b> Distribución y red de haplotipos para el fragmento del gen mitocondrial Citocromo b y barreras mostradas por el programa BARRIER ..... | 53 |
| <b>FIGURA 3.</b> Genealogía de los individuos recuperada mediante un análisis de inferencia bayesiana .....   | 54 |
| <b>FIGURA 4.</b> Gráficas de la comparación por pares de secuencias de distribución mismatch .....  | 55 |

## RESUMEN

De las tres especies de primates presentes en México, es *Alouatta palliata* la que presenta mayor reducción de sus poblaciones debido a la pérdida de hábitat, principalmente en el Estado de Veracruz. La reducción de su territorio ha llevado no sólo a la fragmentación del hábitat, sino también a la fragmentación de las poblaciones. A pesar de esto, han sido muy pocos los estudios genéticos realizados en México para la especie y ninguno de ellos en el Estado de Veracruz. Para el presente estudio se amplificaron secuencias de un fragmento de 331 pb del gen mitocondrial Cit B con el objetivo de conocer la estructura y diversidad genética de las poblaciones de *A. p. mexicana* en el Estado y determinar si la fragmentación del hábitat ha tenido consecuencias para su variabilidad genética. Para esto, se colectaron de forma no invasiva muestras de pelo provenientes de individuos de doce localidades de cuatro regiones (dos en hábitat fragmentado y dos en hábitat conservado) del estado de Veracruz. Los resultados sugieren que las poblaciones de *A. p. mexicana* en el estado presentan una variabilidad genética de moderada a alta ( $Hd= 0.76$ ;  $Pi= 0.012$ ) en comparación con la reportada para otras especies del mismo género en otras localidades. Además, muestran que no existe diferencia significativa entre la variabilidad genética de las poblaciones en hábitat con diferentes condiciones de perturbación ( $t= -0.4093$ ,  $g.l.=2$ ,  $P=0.7218$ ), observándose que la fragmentación del hábitat podría aún no tener un efecto significativo a nivel genético. Sin embargo, a partir de nuestro trabajo de campo consideramos que a nivel demográfico la especie mantiene alto riesgo debido a la pérdida de hábitat, tráfico ilegal y cacería, pudiendo resultar en extinciones locales antes de que pudiera observarse un efecto en la genética de sus poblaciones. Un análisis de la historia poblacional identificó dos linajes con una profunda divergencia genética, actualmente existiendo en simpatría en el estado. Esto puede ser resultado de un contacto secundario debido a distintos eventos de colonización a la región de Veracruz por poblaciones que se encontraban aisladas durante el Pleistoceno, como se ha reportado en otras especies centroamericanas de vertebrados. Se propone la importancia de realizar monitoreos de la variabilidad genética de las siguientes generaciones de *Alouatta palliata mexicana* en Veracruz para evaluar el efecto del proceso de fragmentación del hábitat y su huella genética.

# CAPITULO I

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 La fragmentación de las selvas y su impacto en las poblaciones de primates

En la actualidad, el planeta se enfrenta a una acelerada perturbación y modificación de sus ecosistemas, así como a la irreversible pérdida de su biodiversidad. Esto ha sido ocasionado principalmente por actividades humanas como la sobreexplotación de los recursos, las especies invasoras, la contaminación, así como la pérdida y fragmentación del hábitat entre muchos otros factores (Wilson, 1992; Toledo, 1994). Estudios recientes muestran que en México, al igual que otros países megadiversos, existe una alta tasa de pérdida de hábitat, lo que ha puesto a numerosas especies en peligro (CONABIO, 2008). Los reportes indican que los bosques tropicales han sido uno de los hábitat más afectados (Myers, 1991) y la deforestación ha creado un paisaje altamente modificado, donde los parches de vegetación nativa se distribuyen en una matriz de hábitat transformada para uso agrícola y áreas de desarrollo urbano (Silva-López, *et al.*, 1993; Aguilar *et al.*, 2000; Fahrig, 2003; Pozo-Montuy, 2006; Laurence, 2007).

Los efectos de la pérdida y fragmentación de hábitat están íntimamente relacionados ya que la fragmentación es una consecuencia de la pérdida de hábitat (Cowlshaw y Dunbar, 2000). La fragmentación del hábitat está definida como el proceso de subdivisión de un hábitat continuo en parches más pequeños. Aunque esto ocurre de forma natural a través de incendios, la caída de árboles por el viento, inundaciones, etc. La principal causa de fragmentación del hábitat a gran escala corresponde a la expansión e intensificación del uso del suelo las actividades antropogénicas (Andren, 1994; Hansson *et al.*, 1995). Este cambio gradual en la configuración del paisaje puede incidir sobre la supervivencia de las especies que ahí habitan.

Algunos de los efectos observados de la fragmentación del hábitat sobre las poblaciones de animales, es que al ir aumentando el número de fragmentos (estos cada vez de menor tamaño) y al reducirse la cantidad disponible de hábitat, se origina una reducción del número de individuos mantenidos por cada fragmento. Asimismo, al aumentar la distancia entre los fragmentos, también aumenta la dificultad para el intercambio de individuos entre las poblaciones

aisladas y disminuye la posibilidad de reponerse por colonización (Santos y Tellería, 2006). La disminución del tamaño de los fragmentos se asocia a un incremento de la relación perímetro/superficie, creando así en todos los fragmentos una banda perimetral de hábitat con condiciones adversas para muchas de las especies presentes, reduciendo aun más el hábitat de “buena calidad” (Janzen, 1983; Fletcher, 2005; Santos y Tellería, 2006).

La fragmentación también puede afectar a las poblaciones silvestres a nivel genético debido a la reducción del número total de individuos y del número de individuos que contribuyen genéticamente a la población (tamaño efectivo de población,  $N_e$ ). Estas disminuciones en la población pueden tener como consecuencia el cambio azaroso en las frecuencias alélicas en las siguientes generaciones (deriva génica). Por otro lado, debido al alto grado de fragmentación en el hábitat, aumentan las distancias entre los fragmentos de bosque y en muchos casos se puede interrumpir la dispersión de individuos y el intercambio de genes de una población a otra por migración (flujo génico), produciéndose aislamiento genético (Young y Clarke, 2000; Frankham, 1996). Aunque la naturaleza de la matriz del hábitat (paisaje circundante al fragmento) y la capacidad innata de dispersión propias de la especie (vagilidad), puedan influir en el grado de aislamiento de las poblaciones (Mborá y McPeck, 2010).

En el caso de los primates, se ha visto que son particularmente vulnerables a la pérdida y la fragmentación del hábitat, pues requieren de grandes áreas de ámbito hogareño para satisfacer sus requerimientos vitales (Mittermeier, 1991; Mittermeier y Cheney, 1987). Además, en el caso de los monos del Neotrópico al ser de hábitos arbóreos presentan por lo general, problemas de movimiento y migración al aumentar la distancia entre poblaciones aisladas. Asimismo, existen cuatro características de los primates que pueden impactar su habilidad para sobrevivir en fragmentos de bosque: 1) el tamaño de su ámbito hogareño; 2) el grado de frugivoría en la dieta; 3) la plasticidad en su comportamiento y en su dieta, y 4) su habilidad para usar la matriz del paisaje fragmentado (Laurence, 1991; Tutin y White, 1999; Onderdonk y Chapman, 2000; Silver y Marsh, 2003). Los primates del género *Alouatta* muestran una gran flexibilidad ecológica, y su comportamiento les ha permitido sobrevivir e incluso hacer uso de los nuevos recursos de la matriz que les rodea posterior a la fragmentación de sus espacios vitales, (Crockett, 1998; Kowalewski y Zunino, 1999; Cowlshaw y Dunbar, 2000; Bicca-Marques, 2003; Escobedo-Morales y Mandujano, 2007). Autores como García-Chiarello (1993), Estrada y Coates-Estrada

(1996), Horwich (1998), Crockett (1998) y Pozo-Montuy y Serio-Silva (2006), atribuyen esta capacidad de adaptación a la flexibilidad de su dieta, que es principalmente folívora, por lo que no requieren de moverse grandes distancias para conseguir su alimento logrando adaptarse a vivir en parches de vegetación pequeños. Sin embargo, a largo plazo, este aislamiento podría tener repercusiones serias para estos primates, dado que estudios recientes muestran que la fragmentación limita severamente su habilidad de dispersión y consecuentemente restringe el flujo génico (Estrada y Coates-Estrada, 1996; Horwich, 1998; Oklander *et al.*, 2010) pudiendo llevar a sus poblaciones a la endogamia (Wright, 1921; Hedrick, 2000), la consecuente pérdida de diversidad genética y a extinciones locales.

### **1.2. Mono Aullador de Manto (*Alouatta palliata mexicana*)**

*Alouatta palliata*, es una de las tres especies de primates que existen en México (Ceballos y Oliva, 2005); pertenece a la subfamilia Atelinae, que incluye también a los monos araña (*Ateles*) (Rylands *et al.*, 2000). *A. palliata* es la especie de primate silvestre más norteña del Neotrópico (Zarza-Villanueva, 2006), encontrándose desde zonas selváticas del sureste de México (Veracruz, Oaxaca, Chiapas, Campeche y Tabasco), hasta Centroamérica y las selvas costeras del Pacífico en Sudamérica (Ceballos y Oliva, 2005). Consecuente con esta amplia distribución, el hábitat que ocupan es muy diverso: selvas altas perennifolias y medianas sub-perennifolias (Estrada, 1982), bosque seco y ripario (Glander, 1975), bosque tropical lluvioso y selvas medianas costeras (Carpenter, 1934), desde el nivel del mar hasta alrededor de los 2000 metros de altitud, aunque son más comunes por debajo de los 600 msnm (Rowe, 1996; Silva- López, 2005).

Son primates arbóreos y diurnos, principalmente, que se agrupan en unidades sociales y reproductivas conformadas de machos y hembras adultas, juveniles e infantes (Estrada, 1982; Sánchez *et al.*, 1998). El número de individuos por tropa puede ir desde cuatro hasta los 21 dependiendo de la zona (Rowe, 1996). Los patrones de dispersión de *Alouatta palliata* sugieren que las transferencias de individuos entre tropas suceden tanto por los machos como por las hembras (Milton, 1980; Rowe, 1996). Los individuos se dispersan o son expulsados de sus grupos de nacimiento antes de madurar sexualmente o poco después de que ésta haya sido alcanzada, reduciendo de este modo la probabilidad de apareamientos con individuos emparentados (Glander, 1992; Duarte-Dias, 2007). Las hembras alcanzan la madurez sexual entre los tres a cuatro años y los machos entre los cuatro y cinco años (Zarza-Villanueva, 2006). El

sistema de apareamiento de *A. palliata* es la poliginia o poliginandria, es decir un macho con varias hembras, o varios machos y varias hembras (Di Fiore y Campbell, 2007; Duarte-Días, 2007). La hembra tiene su primera cría después de los cuatro años, con un periodo de gestación de 180 a 194 días y un intervalo entre nacimientos en promedio de 22.5 meses (Rowe, 1996). El tiempo máximo de vida de los monos aulladores es de aproximadamente 30 años, y se han observado hembras de más de 20 años de edad con crías dependientes (Glander, 2005). En esta especie, así como otras del género *Alouatta*, las tropas no tienen territorios exclusivos, pero defienden el lugar donde se encuentran sus recursos básicos para sobrevivir (conocido como ámbito hogareño), de entre 9.9 y 60 hectáreas en zonas con hábitat continuo. Su desplazamiento diario oscila entre 100 y 800 metros, según la variación de la oferta de recursos en el ambiente (Rowe, 1996).

En las últimas seis décadas, la destrucción de las selvas en México, la presión por cacería y el tráfico ilegal como mascotas ha puesto a la especie en un serio riesgo de extinción, por lo que en la actualidad se encuentran localmente extintos en varias partes del sur de México (Estrada y Coates-Estrada, 1996). Se estima que en este periodo de tiempo, las poblaciones han sufrido una reducción del 90% (Estrada y Coates-Estrada, 1995), por estas razones se considera a *A. p. mexicana* como Especie en Peligro de Extinción en la legislación mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010, Diario Oficial de la Federación, 2010); está incluida en el Apéndice I de CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre, por sus siglas en inglés) (CITES, 2012), y en la Lista Roja de la IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales) está catalogada como Críticamente en Peligro (Cuarón *et al.*, 2008).

### **1.3 *Alouatta palliata mexicana* en Veracruz**

Al igual que en el resto del país, el deterioro de las selvas del sur de Veracruz se volvió notable con el desarrollo de programas de colonización y reubicación de poblados (Velásquez *et al.*, 2002; Hernández-Gómez *et al.*, 2011). La deforestación y transformación del paisaje en el sur del estado se caracterizó por la expansión de superficies para la ganadería extensiva pero también para la agricultura (plantaciones de *Ficus* sp. y cítricos, principalmente; Chazaro, 1986; Geist y Lambin, 2001). Solo en pocos sitios del sur del estado aun existen relictos de selva más o menos extensos y conservados, los más importantes se encuentran en la región el Valle del Uxpanapa y

las partes altas de la Sierra de Santa Martha y el Volcán de San Martín en la región de Los Tuxtlas (García-Orduña, 1995; Ellis *et al.*, 2011; Hernández-Gómez *et al.*, 2011).

Las poblaciones de *A. palliata* que quedan en el estado, se encuentran en su mayoría en fragmentos de selva de extensión variable (Watts, 1986; Estrada y Coates-Estrada, 1988; Estrada y Coates-Estrada, 1996). Se sabe por los numerosos estudios de la ecología de esta especie, realizados en la región de Los Tuxtlas en los últimos 40 años, que la fragmentación tiene influencia sobre algunos factores demográficos y conductuales (Jiménez, 1992; García-Orduña, 1996; Estrada *et al.*, 1999). Algunos de estos cambios observados son la variación en el tamaño de las tropas, modificación en los patrones de actividad y forrajeo al verse forzados a desplazarse en una matriz de fragmentos aislados para poder cubrir sus necesidades (Estrada *et al.*, 1999; Mandujano y Estrada, 2005). Además, bajo severas condiciones de fragmentación del hábitat se le ha observado cruzar espacios abiertos para moverse entre los parches de vegetación y bajar al suelo para tomar agua (Gilbert y Stouffer, 1989; Serio-Silva y Rico-Gray, 2000; Pozo-Montuy, 2003; Ramírez-Julián, 2010). Este comportamiento les permite moverse entre fragmentos cercanos, sin embargo, esta forma de desplazamiento implica grandes riesgos como la exposición a depredadores (principalmente perros), atropellamientos y a nuevas enfermedades (Van Belle y Estrada, 2005; Pozo-Montuy y Serio-Silva, 2007).

A largo plazo, el aislamiento de las poblaciones de monos aulladores de manto por la fragmentación también podría tener repercusiones serias en la salud genética de dichas poblaciones, pues se ha mostrado el efecto negativo que tiene la fragmentación en la habilidad de dispersión de los individuos y consecuentemente esto restringe el flujo génico (Estrada y Coates-Estrada, 1996; Oklander *et al.*, 2010).

#### **1.4 La genética como herramienta para la conservación de los primates**

Desde hace varias décadas se ha visto que la mejor manera de plantear estrategias de conservación es abordando los problemas desde diversas perspectivas. Es por ello que la Biología de la Conservación interrelaciona disciplinas científicas (taxonomía, ecología, biogeografía, evolución, genética y epidemiología), prácticas (veterinaria, agronomía e ingeniería forestal), ciencias sociales (antropología, geografía, historia y sociología), y humanidades (filosofía y derecho ambiental) (Soulé, 1985; Primack, 1995). Una de las disciplinas científicas que provee



importantes herramientas que podrían ayudar a asegurar la supervivencia de especies y ecosistemas es la Genética de la Conservación (Hendrick, 2001; Fletcher, 2008). Gracias al desarrollo de técnicas y análisis moleculares, es posible estimar el flujo génico de una manera detallada y con mayor resolución. Estas técnicas se basan principalmente en observar la distribución espacial de alelos o haplotipos en las poblaciones para hacer inferencias de los niveles o patrones de flujo génico entre ellas (Ralls *et al.*, 1988; Hedrick y Miller, 1992; Altmann *et al.*, 1996; Aguirre-Planter, 2007; Leigh *et al.*, 2008).

Los patrones de estructura poblacional mostrados por el ADN mitocondrial (ADNmt) pueden ser especialmente útiles para entender el efecto de la pérdida de variabilidad genética debido a la pérdida de individuos o por la fragmentación de las poblaciones de primates (Mbora y McPeck, 2010). El ADNmt es heredado por la madre, muestra una evolución rápida de su secuencia (estimada en aproximadamente 2% de divergencia de secuencias por cada millón de años) y no se recombina (Brown *et al.*, 1979; Hayashi *et al.*, 1985). El gen del Citocromo b, ha sido uno de los genes mitocondriales más empleados en estudios genéticos de mamíferos para describir relaciones a nivel poblacional o de bajo nivel taxonómico (Meyer, 1993; Rocha-Olivares, 1999). También es considerado uno de los genes de mayor utilidad en investigación filogenética (Esposti *et al.*, 1993), ya que presenta posiciones en los codones con evolución rápida así como otras con evolución lenta, además de regiones muy conservadas y otras más variables. Por lo tanto, ha sido usado para contestar gran diversidad de preguntas a nivel de divergencia reciente de poblaciones (Sturmbauer y Myer, 1992; Rocha-Olivares, 1999).

En años recientes, se han realizado diversos estudios genéticos para la evaluación del efecto de la fragmentación del hábitat sobre las poblaciones silvestres de primates (Zaldívar *et al.*, 2003; García del Valle *et al.*, 2005; Milton *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009; Oklander *et al.*, 2010; Mbora y McPeck, 2010). Sin embargo, los estudios genéticos de este tipo realizados con especies de primates mexicanas, han sido muy pocos y se han centrado principalmente en *Alouatta pigra* (García del Valle *et al.*, 2005; Améndola *et al.*, 2009). La mayoría de los estudios convergen en la importancia de la evaluación de la variabilidad genética a largo plazo como monitoreo de la salud genética, fragmentación y conectividad de las poblaciones y del hábitat. No obstante, para *Alouatta palliata mexicana* no se han realizado estudios genéticos que integren la evaluación de estos factores (Rodríguez-Luna *et al.*, 2009).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde la década de los 90's, se ha reportado una importante reducción que han sufrido las poblaciones de las tres especies de primates mexicanos (*A. palliata*, *A. pigra* y *Ateles geoffroyi*) principalmente por la acelerada pérdida de su hábitat (Estrada y Coates-Estrada, 1994; Sánchez *et al.*, 1998); siendo *A. palliata* la que presenta mayor reducción de sus poblaciones, especialmente en el estado de Veracruz (Zarza-Villanueva, 2006; Rodríguez-Luna *et al.*, 2009). La imparable destrucción y modificación del hábitat, obliga a las poblaciones de monos silvestres a vivir en fragmentos cada vez más aislados de selva (García-Orduña, 1995). Si bien *A. p. mexicana* ha mostrado tener flexibilidad ecológica y conductual que le ha ayudado a sobrevivir en las nuevas condiciones (Estrada y Coates-Estrada, 1996; Escobedo-Morales y Mandujano, 2007), el efecto a nivel genético ocasionado por la fragmentación de sus poblaciones puede ser un factor determinante para la supervivencia de la especie a largo plazo (Estrada y Coates-Estrada, 1996; Rodríguez-Luna *et al.*, 2009).

Con base en lo anterior, para el presente estudio se realizaron análisis para determinar la variabilidad genética de poblaciones de *Alouatta palliata mexicana* en dos escenarios de hábitat (fragmentado y conservado) en el estado de Veracruz; con el fin de evaluar si existe algún efecto de la fragmentación de las selvas sobre las cualidades de diversidad genética en estas poblaciones. Dicho estudio se presenta a continuación en formato de artículo científico para ser sometido a la revista *American Journal of Primatology*.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo General**

Estimar la variación y estructura genética de poblaciones de mono aullador (*Alouatta palliata mexicana*) en hábitat conservados y fragmentados del estado de Veracruz.

#### **3.2. Objetivos Particulares**

- a) Comparar los patrones de variación y estructura genética de poblaciones en fragmentos aparentemente aislados con los de poblaciones en selva conservada del mono aullador de manto.
- b) Identificar si existe relación entre la distribución geográfica de las poblaciones con la distribución de la variación genética en *A. p .mexicana* del estado de Veracruz.
- c) Proponer estrategias de conservación para la especie y su hábitat.

#### 4. HIPÓTESIS

- a) Debido a que la fragmentación del hábitat afecta severamente la habilidad de dispersión de *A. p. mexicana* y en consecuencia restringe el flujo génico, se supone que la variabilidad genética de las poblaciones en áreas fragmentadas será menor que en áreas conservadas.
  
- b) Con base en evidencias previas se ha determinado una pérdida de variabilidad genética para *A. palliata* en dirección norte del continente Americano, por lo que al ser Veracruz la zona de distribución más norteña de la especie, se encontrará en general una baja diversidad genética.
  
- c) Al reducirse el flujo génico por el aislamiento y fragmentación de las poblaciones se ocasiona una gradual diferenciación entre ellas, de tal manera que para *A. palliata* en el sur de Veracruz la variación genética de las poblaciones tendrá relación directa con su distribución geográfica.

## **CAPITULO II**

**Evaluación del estado genético en las poblaciones de *Alouatta palliata mexicana* en Veracruz, por el posible efecto de la fragmentación del hábitat**

(El formato sigue las normas editoriales del *American Journal of Primatology*)

1 **Evaluación del estado genético en las poblaciones de *Alouatta palliata mexicana* en**  
2 **Veracruz, por el posible efecto de la fragmentación del hábitat**

3  
4 Argüello-Sánchez, Laura Elisa<sup>1</sup>, García-Feria, Luis Manuel <sup>2</sup>, Serio-Silva, Juan Carlos<sup>2</sup> y  
5 Espinosa de los Monteros, Alejandro<sup>3</sup>

6  
7 <sup>1</sup> Posgrado del Instituto de Ecología A.C., Xalapa, Veracruz

8 <sup>2</sup> Red Biología y Conservación de Vertebrados, Instituto de Ecología A.C., Xalapa, Veracruz

9 <sup>3</sup> Laboratorio de Sistemática, Red de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología A.C., Xalapa,  
10 Veracruz

11 Numero de palabras

12 Resumen: 269

13 Texto (excluyendo referencias): 5603

14 Numero de referencias: 112

15 Número de Figuras: 4

16 Número de Cuadros: 5

17  
18  
19 Short title: Evaluación del estado genético en las poblaciones de *Alouatta palliata mexicana* en  
20 Veracruz

21 Dirección de contacto: Laura Elisa Argüello Sánchez. – Posgrado Instituto de Ecología, A.C. –  
22 Carretera Antigua a Coatepec # 351, El Haya, Xalapa, Veracruz, México. C.P. 91070 Tel. 52  
23 (228) 8421853 elisillos@hotmail.com

27 **RESUMEN**

28 De las tres especies de primates nativas de México, es *Alouatta palliata* la que presenta mayor  
29 reducción de sus poblaciones debido a la pérdida de hábitat, principalmente en el Estado de  
30 Veracruz. La reducción de su territorio ha llevado no sólo a la fragmentación del hábitat, sino  
31 también al aislamiento de sus poblaciones. En México se han realizado muy pocos estudios  
32 genéticos de la especie y ninguno de ellos en Veracruz. Para el presente estudio se amplificó un  
33 fragmento de 331 pb del gen mitocondrial Citocromo b con el objetivo de conocer la estructura y  
34 diversidad genética de las poblaciones de *A. p. mexicana* en el Estado y determinar si la  
35 fragmentación del hábitat ha tenido consecuencias para su variabilidad genética. Para esto,  
36 mediante una técnica no invasiva se colectaron muestras de pelo de individuos de diferentes  
37 tropas en áreas fragmentadas y conservadas del estado de Veracruz. Los resultados muestran que  
38 las poblaciones de *A. p. mexicana* en el estado de Veracruz presentan una variabilidad genética de  
39 moderada a alta ( $Hd= 0.76$ ;  $Pi= 0.012$ ) en comparación con la reportada para otras especies del  
40 mismo género. Además, sugieren que no existe diferencia entre la variabilidad genética de las  
41 poblaciones en hábitats con diferentes condiciones de perturbación, sugiriendo que la  
42 fragmentación del hábitat aún no tiene un efecto significativo a nivel genético ( $t = -0.4093$ , g. l. =  
43 2,  $p = 0.7218$ ). Sin embargo a nivel demográfico la especie esta bajo un alto riesgo por la pérdida  
44 de hábitat, tráfico ilegal y cacería, pudiendo llevar a extinciones locales antes de que se observe  
45 un efecto en el estado genético de las poblaciones en el estado de Veracruz.

46 **PALABRAS CLAVE:** fragmentación, *Alouatta*, ADN mitocondrial, genética de poblaciones,  
47 Veracruz

48

49

50

51

52

53

54

## 55 **INTRODUCCIÓN**

56 En México, los bosques tropicales han sido gravemente afectados por la deforestación [Myers,  
57 1991] y se ha creado un paisaje altamente fragmentado [Aguilar *et al.*, 2000; Fahrig, 2003]. La  
58 subdivisión de un hábitat continuo en parches más pequeños, puede afectar de múltiples formas a  
59 las poblaciones silvestres produciendo cambios a nivel demográfico, conductual, y genético. La  
60 disminución del tamaño poblacional por la fragmentación del hábitat conduce a la pérdida de  
61 individuos que contribuyen genéticamente a la población (tamaño efectivo de población,  $N_e$ ), con  
62 lo cual aumenta la deriva génica; además, al aumentar las distancias entre los fragmentos, en  
63 muchos casos, se interrumpe el flujo génico, produciendo aislamiento o fragmentación  
64 poblacional [Young y Clarke, 2000; Frankham, 1996]. No obstante, existen otros factores  
65 primordiales que influyen en la fragmentación poblacional como la naturaleza de la matriz del  
66 hábitat (paisaje circundante al fragmento) y la vagilidad de la especie [Mbona y McPeck, 2010)].

67 *A. palliata* es la especie de primate silvestre mas norteña del continente Americano  
68 [Zarza-Villanueva, 2006], desde el sureste de México hasta Sudamérica [Ceballos y Oliva, 2005].  
69 Son primates arbóreos que se agrupan en unidades sociales y reproductivas, conformadas de uno  
70 o varios machos, varias hembras adultas y su descendencia [Estrada, 1982]. Se ha sugerido que  
71 las transferencias de individuos entre tropas suceden tanto por los machos como por hembras al  
72 alcanzar a la madurez sexual [Milton, 1980; Rowe, 1996]. Su sistema de apareamiento es la  
73 poliginia o poliginandria, es decir un macho con varias hembras, o varios machos con varias  
74 hembras [Di Fiore y Campbell, 2007; Duarte-Días, 2007].

75 Desde hace dos décadas, se ha reportado la drástica disminución de las poblaciones de las  
76 tres especies de primates silvestres mexicanos (*A. palliata*, *A. pigra* y *Ateles geoffroyi*) debido a  
77 la pérdida de su hábitat, así como por la cacería y la extracción de individuos para el comercio  
78 ilegal de mascotas [Estrada y Coates-Estrada, 1994; Sánchez *et al.*, 1998; Duarte y Estrada,  
79 2003]; siendo *A. palliata* la que presenta mayor reducción de sus poblaciones (cerca del 90%),  
80 principalmente en el estado de Veracruz [Zarza-Villanueva, 2006; Rodríguez-Luna *et al.*, 2009],  
81 aunado a la fragmentación y a la pérdida del hábitat [García-Orduña, 1995]. Si bien *A. p.*  
82 *mexicana* ha logrado sobrevivir en las nuevas condiciones, la afectación a nivel genético  
83 ocasionado por la fragmentación de sus poblaciones puede ser un factor determinante para la



84 supervivencia de la especie a largo plazo [Estrada y Coates-Estrada, 1996; Rodríguez-Luna *et al.*,  
85 2009].

86 A diferencia de otros primates, los monos aulladores (género *Alouatta*), han mostrado una  
87 gran flexibilidad ecológica y en su comportamiento que les ha permitido sobrevivir e incluso  
88 hacer uso de los nuevos recursos de la matriz del paisaje fragmentado [Crocket, 1998;  
89 Kowalewski y Zunino, 1999; Cowlshaw y Dunbar, 2000; Bicca-Marques, 2003; Escobedo-  
90 Morales y Mandujano, 2007]. Sin embargo, si a largo plazo, este aislamiento podría tener  
91 repercusiones serias para estos primates dado que algunos estudios muestran que la  
92 fragmentación limita severamente su habilidad de dispersión y consecuentemente restringe el  
93 flujo génico [Estrada y Coates-Estrada, 1996; Horwich, 1998; Oklander *et al.*, 2010] pudiendo  
94 llevar a sus poblaciones a la endogamia [Wright, 1921; Hedrick, 2000], pérdida de diversidad  
95 genética y a extinciones locales.

96 Una de las consecuencias de la reducida variabilidad genética es la disminución en la  
97 capacidad de adaptación de los organismos a los cambios ambientales [O'Brien *et al.*, 1985;  
98 Packer *et al.*, 1991; Araki *et al.*, 2007], por lo que es indispensable monitorear la variabilidad  
99 genética, fragmentación y conectividad de las poblaciones y del hábitat. No obstante, para *A. p.*  
100 *mexicana* no se han realizado estudios genéticos que integren la evaluación de estos factores  
101 [Rodríguez-Luna *et al.*, 2009]. Es por ello que en este estudio se realiza el análisis de la  
102 variabilidad genética de poblaciones bajo dos condiciones de calidad de hábitat (fragmentado y  
103 conservado) en el estado de Veracruz. De esta forma, pretendemos conocer aspectos genéticos  
104 poblacionales y evaluar el posible efecto que la fragmentación de las selvas ha tenido en las  
105 poblaciones de mono aullador de manto.

106

## 107 **MÉTODOS**

### 108 **Sitios de estudio**

109 Fueron visitadas 12 localidades en el estado de Veracruz, donde ha sido confirmada la presencia  
110 de *A. palliata* y se reporta el grado de perturbación del sitio según la Estimación de la Viabilidad  
111 Poblacional y del Hábitat (PHVA) de primates mexicanos recopilado por la Unión Internacional  
112 para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) [Rodríguez-Luna *et al.*, 2006]. Estas localidades  
113 fueron agrupadas en cuatro regiones (Cuadro I), de acuerdo al grado de perturbación, teniendo:

114 zonas que han sufrido de una alta fragmentación del hábitat por la actividad antropogénica en los  
115 últimos 60 años (hábitat fragmentado) y zonas que aun mantienen remanentes relativamente  
116 extensos de bosque continuo (hábitat conservado; Figura 1). Estas regiones estuvieron separadas  
117 entre ellas por distancias de entre 62 y 114 km.

118 A) Poblaciones en hábitat fragmentado (HF):

119 1) Región Centro: Incluye las comunidades de Ixtal, Ejido Los Ángeles y Cascajal del  
120 Río dentro del Municipio de San Juan Evangelista. La vegetación original predominante era la  
121 selva alta perennifolia con especies de palmares, manglares y pastizales. Actualmente,  
122 aproximadamente el 83% del territorio de esta región ha sido transformado en potreros y áreas de  
123 cultivo dejando muy pocos remanentes de selva (menos del 1% del territorio) y pocas áreas con  
124 vegetación secundaria (8.5 %) [INEGI, 2005].

125 2) Región Sur: Incluye las localidades de Coatzacoalcos, Nanchital, y las Choapas que  
126 pertenecen a los municipios con los mismos nombres. Originalmente la vegetación predominante  
127 de la región era la selva baja perennifolia y caducifolia, sin embargo, en la actualidad ésta es una  
128 de las zonas más deforestadas del estado y se dedica gran parte del territorio a la ganadería y a la  
129 agricultura [INEGI, 2005].

130 B) Poblaciones en hábitat Conservado (HC):

131 1) Región Los Tuxtlas: Ésta región se considera como la distribución más norteña de la  
132 especie y de los primates en el continente [Estrada y Coates-Estrada, 1996]. Se muestrearon  
133 tropas en las localidades de Montepío, Ruiz Cortines y Catemaco que pertenecen a los  
134 municipios de San Andrés Tuxtla y Catemaco. Dentro de esta región se encuentra la Reserva de  
135 la Biosfera Los Tuxtlas, una de las más importantes de la región [CONANP, 2006]. La  
136 vegetación original predominante era la selva alta y baja perennifolia, también encontrándose  
137 bosque mesófilo de montaña y bosque de pino, pequeñas zonas inundables de sabana, selva baja  
138 inundable, manglar, popal, tular, vegetación acuática y subacuática [CONABIO, 2011]. Ahora un  
139 alto porcentaje de la vegetación de la región ha sido sustituida por pastizales para el ganado,  
140 dejando poco remanentes extensos de vegetación en las zonas de montañas [INEGI, 2005].

141 2) Región Uxpanapa: incluye las localidades de Rojo Gómez y La Palma dentro de los  
142 municipios de Uxpanapa e Hidalgotitlán respectivamente. Los tipos de vegetación natural  
143 predominantes son selva mediana y alta subperenifolia [INEGI, 2008]. A pesar de la

144 deforestación, la región aun se reconoce por su importancia para la biodiversidad a nivel nacional  
145 y mundial, pues se continúa con los relictos extensos de vegetación de la selva de los Chimalapas  
146 y figura como Hot Spot o área prioritaria para la conservación dentro de la región Mesoamericana  
147 [Mittermeier y Goettsch, 1992; Ellis *et al.*, 2011].

#### 148 **Procesamiento de muestras en el laboratorio**

149 Entre abril de 2011 y marzo de 2012 se colectaron muestras de pelo de 46 individuos adultos de  
150 *A. p. mexicana* mediante la técnica no invasiva de “dardos pegajosos” [García-Feria, 2008;  
151 Améndola *et al.*, 2009].

152 El ADN de las muestras se extrajo a partir del folículo de entre uno y cinco pelos  
153 mediante la digestión del folículo en 90 µl de buffer de lisis, 5 µl de proteinasa k y 5 µl de DTT,  
154 para posteriormente purificar el ADN mediante el uso del kit ZR Genomic DNA Tissue Micro  
155 Prep (ZymoResearch, Irvine, California). Se amplificó un fragmento de 331 pb del gen  
156 mitocondrial Citocromo b, para ello se usó una técnica de PCR anidada, que tiene mayor  
157 sensibilidad cuando se trabaja con una baja cantidad de ADN [Ma *et al.*, 2003]. Se emplearon los  
158 oligonucleótidos GLUDG-5'(5'- TGA CTT GAA RAA CCA YCG TTG-3') y CB3-3' (5'- GGC  
159 AAA TAG GAA RTA TCA TTC -3') para una primera amplificación y los oligos CB1-5'(5'-  
160 CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA- 3') CB2-3' (5'CCC TCA GAA TGA TAT  
161 TTG TCC TCA-3') para una segunda amplificación [Cortés-Ortiz *et al.*, 2003]. Se prepararon  
162 reacciones con un volumen total de 25 µl bajo las siguientes condiciones: 2 a 5 µl de extracto de  
163 ADN, 1x GoTaq Green Buffer, 0.65 U de GoTaq DNA Polimerasa (PROMEGA, Madison,  
164 Wisconsin), 0.8 mM de dNTP's, 2 mM de MgCl<sub>2</sub> y 0.5 Mm de cada primer. Ambas PCR se  
165 realizaron con las condiciones sugeridas por Cortés-Ortiz *et al.* [2003] con una desnaturalización  
166 inicial de 3 min a 94 °C seguida de 35 ciclos de 45s a 94 °C, 45s a 42 °C y 90s a 74 °C, y por  
167 ultimo una extensión final de 74° por 7 min. Todos los productos de la PCR se verificaron en  
168 geles de agarosa al 1.5% y fueron visualizados con luz UV. Las muestras positivas se purificaron  
169 usando el kit Gene Clean III (BIO 101, Inc., La Jolla, California) y fueron secuenciadas usando el  
170 kit ABI Prism Big Dye Terminator v 3.1 (Applied Biosystems, Foster City, California) con las  
171 siguientes condiciones: 10s a 95°C, 5s a 50°C y 180s a 60°C por 32 ciclos. Estas amplificaciones  
172 fueron sometidas a limpieza mediante columnas de Sephadex. Los electroferogramas se  
173 obtuvieron con una estación capilar de secuenciación ABI Prism 310 (Perkin Elmer).

## 174 **Análisis de secuencias y parámetros poblacionales**

175 Las secuencias obtenidas fueron de una sola dirección (5'-3') y fueron visualizadas y editadas  
176 con el programa SEQUENCHER versión 5 (Gene Codes Corporation), posteriormente se  
177 alinearon con el programa CLUSTAL X [Thompson *et al.*, 1997]. Los parámetros poblacionales  
178 fueron estimados con los programas ARLEQUÍN versión 3.5.1.3 [Excoffier y Lischer, 2010] y  
179 DnaSP versión 4.10.4 [Rozas y Rozas, 1999]. La variación intra e inter-poblacional se evaluó  
180 usando descriptores como la diversidad de haplotipos ( $Hd$ ), diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ) [Nei y  
181 Li, 1979], sitios segregados (S) [Nei y Kumar, 2000]. La fracción de variación genética  
182 distribuida entre poblaciones se estimó mediante el coeficiente de diversidad genética  $F_{ST}$  [Lynch  
183 and Crease, 1990] con un análisis molecular de varianza [AMOVA; Weir y Cockerham, 1984]  
184 usando los coeficientes linearizados de Slatkin [1995]. A partir de los valores de  $F_{ST}$  de las  
185 comparaciones pareadas entre poblaciones y el valor de diversidad genética  $\theta$  estimamos el flujo  
186 génico ( $Nm$ ; Slatkin, 1991) y el tamaño efectivo poblacional ( $N_e$ ) respectivamente. Para calcular  
187 estos estimadores se hicieron 1023 permutaciones y para las pruebas de significancia se uso un  
188 valor de 0.05. Se realizó una regresión lineal entre el  $Nm$  y el índice de fijación  $F_{ST}$  para  
189 reconocer si el número de migrantes disminuía de acuerdo a la divergencia entre poblaciones.  
190 Además, se efectuó una prueba *t*-student para comparar los índices de diversidad de nucleótidos y  
191 de haplotipos entre hábitat fragmentado y hábitat conservado, usando un nivel de significancia  
192 estadística de 0.05.

193 También, con el uso del programa BARRIER versión 2.2 [Manni *et al.*, 2004] se estimó la  
194 existencia de barreras que pudiera explicar la distribución de los haplotipos, a partir de una matriz  
195 de distancias genéticas generada con Gendist del paquete PHYLIP 3.5 [Felsenstein, 1993].  
196 Posteriormente, se realizó un Análisis Espacial de Varianza Molecular con el programa  
197 SAMOVA v.1.0 [Dupanloup *et al.*, 2002] para definir el número de grupos de poblaciones  
198 locales que son geográficamente homogéneos y altamente diferenciados uno del otro, para esto se  
199 hicieron corridas para 2 a 9 grupos (K) usando 1000 permutaciones. Para inferir las relaciones  
200 entre los haplotipos se construyó una red de haplotipos mediante parsimonia estadística en el  
201 programa TCS 1.21 [Clement *et al.*, 2000], que permitió inferir el posible haplotipo ancestral, y  
202 la vía más probable de diversificación y origen de nuevos haplotipos por medio de acumulación  
203 de mutaciones puntuales.

204 Además, se infirieron las interrelaciones de los individuos colectados por medio de un  
205 análisis bayesiano usando MR. BAYES 3.1.2 [Huelsenbeck y Ronquist, 2001] con 5000000  
206 iteraciones. Previamente al análisis de inferencia bayesiana, se uso el programa jMODELTEST  
207 0.1 [Posada, 2008] para determinar el modelo de sustitución nucleotídica que se ajustaba mejor a  
208 los datos. Finalmente, con el programa BEAST 1.6.1 [Drummond y Rambaut, 2007] se calculó la  
209 fecha de divergencia entre los clados obtenidos previamente con el programa MR. BAYES,  
210 utilizando el modelo de evolución molecular HKY (Hasegawa-Kischino-Yano), método de reloj  
211 molecular relajado y una tasa de mutación de 2% por millón de generaciones.

212 Análisis *post hoc* se realizaron para estimar la historia poblacional. Entre estos, la prueba  
213 de distribución mismatch [Schneider y Excoffier, 2000]; la suma total de las desviaciones al  
214 cuadrado (SSD), prueba de neutralidad selectiva con F's de Fu [Fu, 1997] y R2 [Ramos y Rozas,  
215 2002] para estimar eventos demográficos pasados.

216

## 217 **RESULTADOS**

218 En total se amplificaron y secuenciaron 46 muestras de *Alouatta palliata mexicana*, 24 en hábitat  
219 fragmentado (HF) y 22 en hábitat conservado (HC) (Cuadro I). También se amplificó una  
220 muestra de *Alouatta pigra* y una de *Ateles geoffroyi* que se utilizaron como grupo externo, ya que  
221 dentro del clado de las especies de *Alouatta* mesoamericanas, *A. pigra* y *A. palliata* son las únicas  
222 especies hermanas bien resueltas y separadas por 5.7% de divergencia en secuencias de ADNmt  
223 (Cortes-Ortiz et al 2003) y *Ateles geoffroyi* pertenece a la misma familia que *Alouatta* (Ateline) y  
224 se ha datado su divergencia respecto a *Alouatta*. De las secuencias de *A. palliata* se encontraron  
225 un total de 16 sitios segregados para resolver 13 haplotipos. La mayoría de los cambios genéticos  
226 en las secuencias corresponden a 14 transiciones (9 T-C; 5 G-A) y solo dos a transversiones (A-  
227 C). De los haplotipos encontrados cinco se encuentran en la región Centro, cinco en la Sur, ocho  
228 en Los Tuxtlas y dos en Uxpanapa (Cuadro II).

229 El análisis intrapoblacional mostró que la mayor variación genética fue presentada por los  
230 individuos de la región de Los Tuxtlas. La diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) fluctuó dentro de un rango  
231 de 0.0038 en la región Sur a 0.0139 en Los Tuxtlas. De igual forma, la mayor diversidad de  
232 haplotipos (*Hd*) se encontró en Los Tuxtlas (0.90) y la menor diversidad en Uxpanapa (0.33). El  
233 tamaño efectivo de la población total fue de 310.98 y el calculado por región resultó ser más bajo

234 en la población Sur (Cuadro III). La regresión lineal entre  $F_{ST}$  y  $Nm$  dio como resultado una  
235 correlación negativa ( $r = -0.9511$ ,  $P = 0.035$ ), ajustándose al modelo de islas, el cual apunta que  
236 el incremento en la distancia geográfica entre poblaciones, disminuye la migración y incrementa  
237 la diferenciación genética. Las poblaciones en hábitat fragmentado (HF) y hábitat conservado  
238 (HC) no presentaron diferencias significativas en cuanto a diversidad de haplotipos ( $t = -0.4093$ ,  
239  $g. l. = 2$ ,  $P = 0.7218$ ) ni en diversidad de nucleótidos ( $t = 1.26$ ,  $g. l. = 2$ ,  $P = 0.332$ ).

240 El análisis de varianza molecular, AMOVA, indicó que el 72.77% de la variación  
241 molecular es explicada por la variación dentro de las poblaciones, mientras el 27.23% es  
242 explicado por las diferencias entre poblaciones (Cuadro IV). Las comparaciones de los valores de  
243 las  $F_{ST}$  entre poblaciones, mostraron una diferenciación genética significativa entre todas las  
244 poblaciones, siendo las comparaciones entre el Uxpanapa con el resto de las poblaciones las más  
245 altas. El flujo génico ( $Nm$ ) estimado entre las poblaciones varió de 0.44 migrantes por generación  
246 entre Uxpanapa y Sur, a 2.65 entre Los Tuxtlas y el Centro (Cuadro V).

247 En la red de haplotipos (Figura 2) se muestra que el haplotipo 3 (H3) es el más común por  
248 lo que podría representar el haplotipo ancestral. Este haplotipo se comparte entre las cuatro  
249 regiones muestreadas, sin embargo, es más frecuente en la región Centro. En tres de las  
250 poblaciones se encontraron haplotipos únicos (singletons): uno en la región Centro (H4), tres en  
251 la Sur (H11- H13) y cinco en la región de Los Tuxtlas (H6- H10) (Cuadro II). El haplotipo  
252 específico de la población de la región Centro (H4), dos de los de la región Sur (H11 y H13) y  
253 uno de Los Tuxtlas (H10), derivaron del haplotipo común H3 al haber acumulado una mutación.  
254 El tercer haplotipo endémico de la región Sur (H12) y dos de Tuxtlas (H6 y H8) son resultado de  
255 la acumulación de dos mutaciones puntuales del H3. La acumulación de ocho y nueve  
256 mutaciones por parte del haplotipo H1 ha dado origen a los haplotipos H9 y H7 respectivamente,  
257 ambos específicos de Los Tuxtlas.

258 Los resultados del programa BARRIER, mostraron la existencia de dos barreras que  
259 separan a las localidades de Catemaco y Ruiz Cortines de las otras (Figura 2). El análisis de  
260 SAMOVA indicó que la mejor representación de la estructura genética se observa por dos grupos  
261 filogeográficos ( $\phi_{CT} = 0.24$ ;  $P = 0.025$ ;  $\Delta K = 2$ ); en un grupo colocó a las localidades de  
262 Catemaco y Ruiz Cortines pertenecientes a las región de Los Tuxtlas y en el otro grupo el resto  
263 de las localidades muestreadas. En el árbol bayesiano de interrelaciones de los individuos, se

264 observa que las muestras se agrupan en dos clados principales, pero estos no presentan una  
265 asociación geográfica definida (Figura 3). El clado A incluye la mayor parte de los individuos  
266 provenientes de las cuatro regiones geográficas, mientras que el clado B, está formado en su  
267 mayoría por individuos de la región de Los Tuxtlas y solo incluye a un individuo de la región  
268 Centro y uno de Uxpanapa. Por lo tanto, ambos análisis (BARRIER y SAMOVA) corroboran la  
269 presencia de los dos linajes que describe el árbol bayesiano construido, al separar las muestras en  
270 dos grupos, el primero que corresponde a la ubicación exclusiva del clado A, y el segundo donde  
271 se encuentran muestras del clado A y B.

## 272 **Historia poblacional**

273 Los análisis de la historia poblacional muestran que la distribución de las comparaciones por  
274 pares de secuencias de los haplotipos de *A. palliata* por población, presentan una distribución  
275 bimodal, excepto en la población de la región Sur en donde se observó una curva unimodal. El  
276 mismo resultado se observa al hacer el análisis para la población total (Figura 4). La prueba de  
277 bondad de ajuste generó un estimado significativo de la suma total de las desviaciones al  
278 cuadrado (SSD) para las regiones Tuxtlas (SSD = 0.09;  $P = 0.026$ ) y Uxpanapa (SSD = 0.15,  $P =$   
279 0.037), mostrando estacionalidad en los tamaños de ambas poblaciones no ajustándose al modelo  
280 de expansión. La prueba de neutralidad selectiva  $F$  de Fu solo fue significativa para la región Sur  
281 ( $F_u$ 's  $F = -2.24$ ;  $P = 0.014$ ), por lo que solo en esta población se rechaza la hipótesis nula de un  
282 tamaño poblacional constante. Sin embargo, con el estadístico  $R_2$  [Ramos y Rozas, 2002], que es  
283 estadísticamente más robusto para un tamaño de muestra chico, ninguna población resultó  
284 significativa, por lo que se acepta la hipótesis nula de una expansión poblacional en todos los  
285 casos (Cuadro III).

286

## 287 **DISCUSION**

### 288 **Variabilidad y estructura genética**

289 Los estudios biogeográficos que se han realizado de *A. palliata*, han encontrado evidencia  
290 de una pérdida de diversidad genética en dirección norte de su distribución [Ellsworth y Hoelzer,  
291 2006], por lo cual nosotros esperábamos que las poblaciones localizadas en el estado de  
292 Veracruz, que se encuentran al límite norte de la distribución de la especie, mostraran baja  
293 diversidad. Sin embargo, los resultados encontrados en este trabajo muestran una variabilidad

294 genética entre moderada y alta ( $Hd = 0.76$ ;  $Pi = 0.012$ ) comparada con la encontrada en el gen  
295 Citocromo b y Región Control de las poblaciones de *A. palliata* en Costa Rica [ $Hd = 0.71$  y  $Pi =$   
296  $0.004$ ; Villalobos, 1998], *A. guariba* en Brasil [ $Hd = 0.993$  y  $Pi = 0.024$ ; Machado, 2011], así  
297 como en *A. caraya* en el norte de Argentina y Paraguay [ $Hd = 0.94$  y  $Pi = 0.0088$ ; Ascunce *et al.*,  
298 2007].

299 Por otro lado, se han realizado trabajos utilizando marcadores con mayor tasa de mutación  
300 como los microsatélites para estimar la variabilidad genética de *A. palliata* y en algunos casos, se  
301 encontraron resultados contrastantes a los de ADNmt. Por ejemplo, en la Isla Barro Colorado,  
302 Panamá, se reportó que la heterocigocidad es de las más altas reportadas para el género *Alouatta*  
303 ( $0.584 \pm 0.063$ ) [Milton *et al.*, 2008]; y para Panamá, Costa Rica y México es de 0.55, 0.33 y  
304 0.14, respectivamente, mostrándose para México la variabilidad más baja detectada [Ellsworth y  
305 Hoelzer, 2006]. Este patrón de baja variabilidad reportada usando microsatélites y alta  
306 variabilidad con ADNmt se ha observado en otros taxa, como *Amazila cyanocephala*  
307 [Covarrubias, datos no publicados], *Lanius ludovicianus* [Eggert *et al.*, 2004] y *Strix aluco* [Brito,  
308 2007]. Esta incongruencia en los resultados para ambos marcadores (nucleares y mitocondriales)  
309 puede estar influenciado por los factores ecológicos relacionados al comportamiento de los  
310 organismos como es el patrón de dispersión, principalmente la dispersión sesgada por los machos  
311 o la selección de parejas por el sistema de apareamiento [Prugnolle y Meeus, 2002].

312 La manera en que se distribuye la variabilidad genética en poblaciones fragmentadas  
313 depende principalmente de cuatro factores: 1) la distribución geográfica de la diversidad genética  
314 antes de la fragmentación; 2) el tamaño y número de poblaciones fragmentadas; 3) el tiempo que  
315 las poblaciones han permanecido aisladas respecto al tiempo generacional de la especie; y 4) la  
316 socioecología de la especie (sistema de apareamiento, patrón de dispersión, la distribución de los  
317 linajes en el espacio) [Pope, 1996].

318 Los resultados de este estudio, sugieren que la fragmentación del hábitat aun no presenta  
319 un efecto en los niveles de diversidad genética (del fragmento de Citocromo b estudiado) de las  
320 poblaciones de *A. palliata*, pues no se encontró diferencia significativa entre la diversidad  
321 genética de las poblaciones entre las dos condiciones de calidad de hábitat (i.e., conservado vs  
322 altamente perturbado). Es posible que aun no se observe un cambio a nivel genético debido a que  
323 la fragmentación del hábitat en el estado de Veracruz es relativamente reciente



324 [aproximadamente de hace 60 años; Hernández-Gómez *et al.*, 2011] y el recambio generacional  
325 de los monos aulladores de manto está calculado en alrededor de entre 11 o 12 años [Pope, 1992],  
326 por lo tanto, se da un estimado que en este periodo de tiempo han existido cinco generaciones  
327 aproximadamente. Es por ello que sería conveniente complementar este estudio con un marcador  
328 molecular con una tasa de mutación más rápida como los microsatélites, para así poder detectar el  
329 efecto de la fragmentación del hábitat sobre las poblaciones en periodos más recientes de tiempo  
330 [Schlötterer, 2000]. No obstante, algunos estudios han encontrado que el uso de estos marcadores  
331 no necesariamente ha ayudado a determinar el efecto de las condiciones y grados de  
332 fragmentación del hábitat. Por ejemplo, Améndola *et al.* [2009], mediante el uso de  
333 microsatélites, no encontraron diferencias significativas entre la variación genética de las  
334 poblaciones de *A. pigra* en hábitat con distinto grado de perturbación. Asimismo, se ha reportado  
335 este patrón en otras especies como *Peromyscus leucopus* [Mossman y Waser, 2001] y *Capreolus*  
336 *capreolus* [Wang y Schreiber, 2001].

337         Respecto a la estructuración poblacional de *A. palliata* de las cuatro regiones muestreadas  
338 en Veracruz, encontramos un índice de fijación alto ( $F_{ST} = 0.27$ ;  $P = 0.01$ ), indicando alta  
339 diferenciación entre las poblaciones. No obstante, éste patrón de estructuración genética de las  
340 poblaciones no se puede atribuir necesariamente a la fragmentación del hábitat y puede ser  
341 explicado por el comportamiento y estrategias reproductivas de la especie [Pope, 1992]. En  
342 diversos estudios se ha reportado que la organización social puede tener un gran impacto en la  
343 estructura genética poblacional, encontrándose que las poblaciones de especies con estrategias  
344 reproductivas poligínicas o poliginándricas tienden a tener alta diversidad genética dentro de los  
345 grupos sociales, pero alta divergencia entre ellos [Storz, 1999]. Al igual que en otros mamíferos,  
346 como los perritos de la pradera de cola negra (*Cynomys ludovicianus*) y los venados cola blanca  
347 (*Odocoileus virginianus*), la mayoría de las especies del género *Alouatta* presentan un sistema  
348 social caracterizado por apareamientos poligínicos, lo cual se ha visto que junto con la filopatría  
349 de las hembras, se maximiza la subdivisión genética [Chesserr, 1991; Pope, 1992; Nunney,  
350 1993]. Esto se debe a que al haber una “monopolización” de las hembras por parte de uno o  
351 pocos machos, se ocasiona un mayor parentesco entre los descendientes por no promover los  
352 apareamientos al azar [Emlen y Oring, 1977] y esto junto con la filopatría de las hembras, origina  
353 un mayor parentesco entre los integrantes de un grupo social.

354 Los estudios de dispersión y ecología del movimiento realizados para *A. palliata* en Costa  
355 Rica, reportan que ambos sexos migran [Glander, 1992; Clarke, 1982], además que en algunas de  
356 estas poblaciones de Centroamérica, más de un 90% de las hembras son obligadas a abandonar su  
357 grupo de nacimiento [Glander, 1992]. De acuerdo a este patrón de dispersión, se esperaría una  
358 baja diferenciación entre tropas por el alto intercambio de individuos entre los grupos  
359 reproductivos y una homogenización en la distribución de la diversidad genética entre las  
360 poblaciones, principalmente en la matrilinea mitocondrial. Sin embargo, se ha visto un  
361 comportamiento distinto en *A. p. mexicana*, siendo este más parecido al que se reporta para otras  
362 especies del género *Alouatta*, donde existe una mayor filopatría por parte de las hembras [Serio-  
363 Silva, com. pers.; Arroyo-Rodríguez *et al.*, 2007; Cristóbal-Askarate *et al.*, 2005]. Así mismo, se  
364 ha reportado que las hembras de la misma tropa presentan un alto grado de parentesco, por lo que  
365 se plantea que las hembras se dispersan a grupos donde existen parientes o a que permanecen en  
366 sus grupos natales [Baiz *et al.*, 2012]. Proyectando este efecto a una escala poblacional mayor,  
367 esta filopatría de las hembras generaría una alta diferenciación entre grupos reproductivos y entre  
368 poblaciones, en concordancia con lo encontrado en nuestros resultados.

369 Si bien no se encontraron diferencias significativas a nivel genético entre sitios con  
370 hábitat con distinto grado de perturbación, se sabe que el proceso de fragmentación del hábitat  
371 tiene un alto impacto en las poblaciones de monos aulladores y otras especies. La supervivencia  
372 de las poblaciones de *A. palliata* en México se podría ver en riesgo en las zonas con mayor grado  
373 de fragmentación, pues la calidad del hábitat disminuye [Janzen, 1983; Fletcher, 2005; Arroyo-  
374 Rodríguez y Mandujano, 2006; Santos y Tellería, 2006], presentando mayores problemas para su  
375 dispersión entre fragmentos [Estrada y Coates-Estrada, 1996; Horwich, 1998; Améndola *et al.*,  
376 2009; Oklander *et al.*, 2010] y se ven expuestos a un mayor riesgo de contraer enfermedades y/o  
377 de ser depredados [Pozo-Montuy y Serio-Silva, 2007].

378 Por otra parte, la drástica disminución poblacional que se reporta para la especie en  
379 México y aun más para el estado de Veracruz [Estrada y Coates-Estrada, 1996], puede tener  
380 como consecuencia una disminución en el tamaño efectivo de la población. El tamaño efectivo de  
381 la población calculado en este estudio ( $N_e = 310$ ) tiende a ser bajo según lo recomendado por  
382 Shaffer [1981], quien sugiere que el tamaño efectivo mínimo para una población genéticamente  
383 viable debe ser mayor de 500 individuos. Sin embargo, este número es una generalización para  
384 todas las especies, y se debe tener en cuenta que la viabilidad de una población está determinada

385 por múltiples factores como el contexto ambiental y la historia de vida [Flather *et al.* 2011]. El  
386 Ne aparentemente bajo sugiere que la población de Veracruz podría presentar problemas de  
387 viabilidad genética a largo plazo si se mantienen o aumentan las presiones antropogénicas, sobre  
388 todo a nivel demográfico. No obstante, se debe tener en cuenta diversos factores ambientales  
389 como la disponibilidad de hábitat, el grado de fragmentación, la conectividad entre parches de  
390 vegetación, la disminución del tamaño de las poblaciones, enfermedades, entre otros para  
391 realmente poder evaluar la viabilidad de la especie en esta región [Rodríguez-Luna *et al.*, 2009].

392 La diferenciación genética entre poblaciones así como el flujo génico entre ellas sugiere  
393 que las poblaciones de *A. palliata* de Veracruz se comportan como una metapoblación, es decir,  
394 un conjunto de poblaciones locales que interactúan a través de la migración de individuos entre  
395 ellas, manteniendo una dinámica de colonización y extinción de poblaciones locales [McArthur y  
396 Wilson, 1963; Soulé, 1985; Hanski y Gilpin, 1997]. Este concepto puede ser aplicado tanto para  
397 especies cuyo hábitat está naturalmente constituido en parches [Murphy, *et al.*, 1990], como para  
398 especies que se encuentran en un paisaje fragmentado [Hanski, 1996]. En el caso de *A. palliata*,  
399 este comportamiento metapoblacional encontrado es posiblemente un efecto natural de la  
400 estructura social, comportamiento y estrategias reproductivas de la especie y no un efecto de la  
401 fragmentación actual del hábitat.

402 Es importante considerar este comportamiento metapoblacional de la especie para  
403 formular estrategias de conservación. Una estrategia exitosa dentro de los paisajes fragmentados  
404 requiere la conservación de numerosos parches de hábitat, así como asegurar la conectividad  
405 entre ellos [Gilpin, 1987; Harrison, 1994] para promover el flujo genético entre las poblaciones y  
406 la dinámica de extinción-recolonización propia de una metapoblación, ya que cualquier alteración  
407 puede ocasionar la extinción definitiva de la metapoblación [Gilpin, 1987].

408 Aunque no se encuentra una relación entre la diversidad genética y la geografía en el área  
409 de distribución de *A. palliata* en Veracruz. Existen algunos haplotipos que son exclusivos para  
410 algunas regiones y estos hallazgos pueden servir para reconocer a que población pertenecen los  
411 individuos que son decomisados y/o se encuentran en colecciones y zoológicos. Esto con el fin de  
412 lograr la reintroducción o reproducción en cautiverio manteniendo los linajes naturales de la  
413 especie, así como dirigir planes de translocación de individuos a sitios que correspondan a  
414 poblaciones más cercanas genéticamente. Por otro lado, al considerar la biología de la especie

415 respecto a la filopatría de las hembras, las estrategias de translocación deberán concentrarse en la  
416 relación de sexos translocados. Sin embargo sugerimos evaluar otros genes u otros marcadores  
417 que estén ligados a los cromosomas sexuales para determinar la magnitud del flujo génico para  
418 cada sexo.

### 419 **Historia poblacional**

420 Se conoce como el Gran Intercambio Americano al intercambio de las biotas de Norte y  
421 Sudamérica [Webb, 1976], que ocurrió tras la formación del Istmo de Panamá hace alrededor de  
422 tres millones de años [Coates *et al.*, 1992]; aunque, algunas investigaciones sugieren que la  
423 formación del Istmo fue más un proceso que un evento [Knowlton y Weigt, 1998], propiciando  
424 este intercambio. Durante este proceso, se cree que muchas especies sudamericanas de  
425 vertebrados fueron colonizando territorios en dirección norte, tal es el caso de algunas especies de  
426 peces de agua dulce [Bermingham y Martin, 1998], marsupiales como *Didelphis virginiana*,  
427 numerosos roedores [Marshall, 1988], además de los monos aulladores [Fleagle, 1988]. Nuestros  
428 datos muestran congruencia con esta hipótesis de expansión poblacional reciente tanto por la  
429 distribución mismatch observada en forma de “ola” cuya cresta no se ajusta a la curva de tamaño  
430 poblacional constante [Rogers y Harpending, 1992], así como por la forma similar a una estrella  
431 de la red de haplotipos [Slatkin y Hudson, 1991].

432 La presencia de dos linajes en *A. p. mexicana* sugeridos por los análisis espaciales de  
433 varianza, la determinación de barreras y apoyados con nuestros análisis bayesianos, son similares  
434 a la discontinuidad genética profunda que se ha reportado en dos especies del género *Alouatta*, *A.*  
435 *caraya* [Ascunce *et al.*, 2007] y *A. guariba* [Mello *et al.*, 2010]; monos capuchinos [Ruiz-García,  
436 2012], además de varios vertebrados con la misma distribución geográfica que las dos especies de  
437 *Alouatta* [Avisé, 1998; Mello *et al.*, 2010] como aves [Cabanne *et al.*, 2007] murciélagos y otros  
438 pequeños mamíferos [Ditchfield, 2000; Costa, 2003]. Avisé [2000], definió este patrón genético  
439 caracterizado por dos linajes mitocondriales simpátricos como “patrones filogeográficos de  
440 categoría II” y menciona como posibles explicaciones un tamaño efectivo de la población alto en  
441 conjunto con un flujo génico elevado, selección disruptiva, o bien, por un contacto secundario de  
442 poblaciones previamente aisladas.

443 Tal como se reportó para *A. guariba* [Mello *et al.*, 2010] y *Cebus capucinus* [Ruiz-García,  
444 2012], nuestros resultados de la divergencia de los linajes A y B de *A. p. mexicana* (1.8 millones

445 de años) se remonta al periodo inicial del Pleistoceno. Esta época comenzó hace poco más de dos  
446 millones de años y se caracterizó por oscilaciones extraordinarias del clima mundial [Leigh,  
447 2009]. El efecto de dichos cambios climáticos y el cambio asociado en la vegetación,  
448 posiblemente tuvieron un impacto profundo en la distribución geográfica de la fauna [Webb y  
449 Bartlein, 1992; Mello *et al.*, 2010]. Para las aves y mamíferos, la alternación entre periodos  
450 glaciales e interglaciares durante el Pleistoceno jugó un papel importante en su dispersión y en la  
451 diversificación por el aislamiento de poblaciones en refugios glaciares [Avice y Walker, 1998;  
452 Kemp, 2007]. De acuerdo a lo anterior, la mejor explicación para la presencia de los dos linajes  
453 de *A. p. mexicana* simpátricos en Veracruz sería que esta es una área de contacto secundario entre  
454 poblaciones alopátricas, que pudieron haber llegado en distintos eventos de colonización, tal  
455 como se sugiere para *A. caraya* [Ascunce *et al.*, 2007] y *A. guariba* [Mello *et al.*, 2010] en  
456 Sudamérica.

#### 457 **Observaciones finales**

458 Nuestros análisis no muestran evidencia de un efecto de la fragmentación del hábitat a nivel  
459 genético en las poblaciones de *A. palliata* en Veracruz lo que posiblemente se deba a que la  
460 fragmentación del hábitat es relativamente reciente tomando en cuenta el tiempo generacional  
461 largo de *A. palliata*. Las poblaciones presentan una variabilidad genética de la mitocondria entre  
462 moderada y alta respecto a la reportada en otras especies del mismo género, además de una alta  
463 estructuración genética que podría explicarse por su conformación social. Finalmente se encontró  
464 la presencia de dos linajes mitocondriales simpátricos en Veracruz, donde la explicación más  
465 probable parece ser un contacto secundario de poblaciones alopátricas durante algún momento  
466 del Pleistoceno.

467

#### 468 **AGRADECIMIENTOS**

469 Agradecemos a Daniel Piñero Dalmau por sus sugerencias y revisiones a este trabajo; a FOMIX-  
470 VERACRUZ CONACYT por el financiamiento del proyecto (No. 108865) “Efecto de la  
471 perturbación del hábitat sobre la estructuración y variabilidad genética de las poblaciones de  
472 *Alouatta palliata*: una especie en peligro de extinción en Veracruz, México”; LE Argüello-  
473 Sánchez recibió una beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT – No.  
474 370572). Este estudio fue realizado con pleno conocimiento y aprobación de las autoridades

475 federales de la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), México,  
476 permiso SGPA/DGVS/05938/08.

477

## 478 **REFERENCIAS**

479 Aguilar CE, Martínez E, Arriaga L. 2000. Deforestación de Ecosistemas: ¿Qué tan grave es el  
480 problema en México? *Biodiversitas*, 5:7-11

481 Améndola M, García-Feria LM, Serio-Silva JC, Rico-Gray V. 2009. Noninvasive collection of  
482 fresh hairs from free ranging howler monkeys for DNA extraction. *American Journal of*  
483 *Primatology*, 70:1-5.

484 Araki H, Cooper B, Blouin MS. 2007. Genetic Effects of Captive Breeding Cause a Rapid,  
485 Cumulative Fitness Decline in the Wild. *Science*, 318:100-103

486 Arroyo-Rodríguez V, Mandujano S. 2006. Forest fragmentation modifies habitat quality for  
487 *Alouatta palliata*. *International Journal of Primatology*, 27: 1079-1096

488 Ascunce M, Hansson H, Mulligan CJ, Mudry MD. 2007. Mitochondrial sequence diversity of the  
489 southernmost extant New World monkey, *Alouatta caraya*. *Molecular Phylogenetics and*  
490 *Evolution*, 43:202-215

491 Avise JC. 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University  
492 Press, Cambridge. 464 pp

493 Avise JC. 1998. The history and purview of phylogeography: a personal reflection. *Molecular*  
494 *Ecology*, 7: 371-379

495 Baiz MD, Napier BA, Dias PA, Canales-Espinosa D, Cortes-Ortiz L. 2012. Within-group female  
496 relatedness in two species of howler monkeys. XXIV Congress of the International  
497 Primatological Society. Cancún, México.

498 Bermingham E, Martin AP. 1998. Comparative mtDNA phylogeography of neotropical  
499 freshwater fishes: testing shared history to infer the evolutionary landscape of lower  
500 Central America. *Molecular Ecology*, 7: 499–517

501 Bicca-Marques J. 2003. How do howler monkeys cope with habitat fragmentation? In: Marsh LK  
502 (Ed). *Primates in fragments: Ecology and conservation*. Nueva York. 283–303

- 503 Brito P. 2007. Contrasting patterns of mitochondrial and microsatellite genetic structure among  
504 Western European populations of tawny owls (*Strix aluco*). *Molecular Ecology*, 16:  
505 3423–3437
- 506 Cabanne GS, Santos FR, Miyaki C. 2007. Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus*  
507 (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in  
508 southern Atlantic forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 91:73–84
- 509 Ceballos G, Oliva G. 2005. Los mamíferos silvestres de México. CONABIO-Fondo de Cultura  
510 Económica. México. 988 pp
- 511 Chazaro M. 1986. La vegetación. Evaluación de los impactos ambientales y sociales de la  
512 industria petrolera en el sureste y Golfo de México. México: Centro de Ecodesarrollo.  
513 México, D.F. 94 pp
- 514 Chesserr K. 1991. Gene diversity and female philopatry. *Genetics*, 127:437-447.
- 515 Clarke MR. 1982. Socialization, Infant Mortality and Infant Nonmother Interactions in Howling  
516 monkeys (*Alouatta palliata*) in Costa Rica [Ph.D. Dissertation]. University of California,  
517 Davis. 228 pp
- 518 Clement M, Posada D, Crandall KA. 2000. TCS: a computer program to estimate gene  
519 genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1660.
- 520 Coates AG, Jackson JB, Collins LS, Cronin TM, Dowsett HJ, *et al.* 1992. Closure of the Isthmus  
521 of Panama: the near-shore marine record in Costa Rica and western Panama. *Geological*  
522 *Society of America Bulletin* 104:814-828
- 523 CONABIO. 2011. Los Tuxtlas. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la  
524 Biodiversidad, México. In: [http://www.conabio.gob.mx/conocimiento](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rhp_080.html)  
525 [/regionalizacion/doctos/rhp\\_080.html](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rhp_080.html). 24/01/12.
- 526 CONANP. 2006. Programa de Conservación y Manejo Reserva de la Biosfera Los Tuxtlas.  
527 CONANP-SEMARNAT. México. 293 pp
- 528 Cortéz-Ortíz LE, Bermingham C, Rico E, Rodríguez-Luna I, Sampaio M, Ruíz-García M. 2003.  
529 Molecular systematic and biogeography of the Neotropical monkeys genus, *Alouatta*.  
530 *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26:64-81

- 531 Costa LP. 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a  
532 study of molecular phylogeography with small mammals. *Journal of Biogeography*,  
533 30:71–86
- 534 Cowlshaw G, Dunbar R. 2000. *Primate Conservation Biology*. The University of Chicago Press.  
535 Londres. 498 pp
- 536 Cristóbal-Azkarate L, Veá J, Asensio N, Rodríguez-Luna E. 2005. Biogeographical and  
537 Floristic Predictors of the Presence and Abundance of Mantled Howlers (*Alouatta palliata*  
538 *mexicana*) in Rainforest Fragments at Los Tuxtlas, Mexico. *American Journal of*  
539 *Primatology*, 67:209–222.
- 540 Crockett C. 1998. Conservation biology of the genus *Alouatta*. *International Journal of*  
541 *Primatology*, 19: 549–578.
- 542 Di Fiore A, Campbell C. 2007. The Atelines: Variation in ecology, behavior, and social  
543 organization. 155-185 pp. In: Campbell C, Fuentes A, MacKinnon K, Panger M, Bearder  
544 S (Eds). *Primates in perspective*. Oxford University Press. 864 pp
- 545 Ditchfield AD. 2000. The comparative phylogeography of Neotropical mammals: patterns of  
546 intraespecific mitochondrial DNA variation among bats contrasted to non-volant small  
547 mammals. *Molecular Ecology*, 9:1307–1318
- 548 Drummond AJ, Rambaut A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees.  
549 *BMC Evolutionary Biology*, 7:214–221
- 550 Duarte-Dias, A. 2007. Relaciones sociales entre machos *Alouatta palliata* en los Tuxtlas,  
551 México: Variaciones de función de factores sociodemográficos y ecológicos. [Ph.D.  
552 Dissertation] Universidad Autónoma de Madrid. 270 pp
- 553 Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. 2002. A simulated annealing approach to define the  
554 genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11: 2571–2581
- 555 Eggert L, Mundy N, Woodruff D. 2004. Population structure of loggerhead shrikes in the  
556 California Channel Islands. *Molecular Ecology*, 13: 2121–2133



- 557 Ellis EA, Martínez-Bello M, Monrroy-Ibarra R. 2011. Focos Rojos para la Conservación de la  
558 Biodiversidad en el estado de Veracruz. 351-368 pp. En: Cruz Angón, A. (Ed) La  
559 Biodiversidad en Veracruz: Estudio de Estado. CONABIO. 550 pp
- 560 Ellsworth J, Hoelzer G. 2006. Genetic evidence on the historical biogeography of Central  
561 American howler monkey. 81-103 pp. In: Lehman S, Fleagle J. (Eds). Primate  
562 Biogeography. Springer. New York, 2006.
- 563 Escoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin ver 3.0: An integrated software package for  
564 population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 1:47–50
- 565 Escobedo-Morales L, Mandujano S. 2007. Viabilidad metapoblacional del mono aullador  
566 (*Alouatta palliata mexicana*) en un paisaje altamente fragmentado de Los Tuxtlas,  
567 México. 421-450. En: Hervey CA, Sáenz JC (Eds.). Evaluación y conservación de la  
568 biodiversidad en paisajes fragmentados en Mesoamérica. Instituto Nacional de  
569 Biodiversidad (InBio), Santo Domingo de Heredia, Costa Rica.
- 570 Estrada A .1982. Survey and census of howler monkeys (*Alouatta palliata*) in the rain forest of  
571 “Los Tuxtlas”, Veracruz, México. American Journal of Primatology, 2:363–372
- 572 Estrada A, Coates-Estrada R. 1994. La contracción y fragmentación de las selvas y las  
573 poblaciones de primates silvestres: el caso de Los Tuxtlas, Veracruz. La Ciencia y el  
574 Hombre, 18:45-70.
- 575 Estrada A, Coates-Estrada R. 1996. Tropical rain forest fragmentation and wild populations of  
576 primates at Los Tuxtlas, Mexico. International Journal of Primatology, 17: 759- 783
- 577 Excoffier L, Lischer H E L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform  
578 population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources,  
579 10: 564-567
- 580 Fahrig L. 2003. Effects of habitat fragmentation on biodiversity Annual Review of Ecology and  
581 Systematics, 34:487–515
- 582 Felsenstein J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Distributed by the  
583 author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.

584 Flather CH, Hayward G, Beissinger, Stephens P. 2011. Minimum viable populations: is there a.  
585 'magic number' for conservation practitioners? Trends in Ecology and Evolution, 26: 307–  
586 316

587 Fleagle JG. 1988. Primate Adaptation and Evolution, Academic Press, New York.

588 Frankham R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. Conservation  
589 Biology, 10: 1500-1508.

590 Fu YX. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking  
591 and background selection. Genetics, 147: 915–925.

592 Gilpin M. 1987. Spatial structure and population vulnerability. 125-139. In: Soulé M (Ed). 1987.  
593 Viable populations for conservation. Cambridge University Press. Cambridge. 189 pp

594 García-Feria LM. 2008. Remote sampling of hair for genetic analysis of wild mammals. Revista  
595 de Ecología Latinoamericana, 13:13-15.

596 García-Orduña F. 1995. Fragmentación del hábitat y demografía de primates en la región de Los  
597 Tuxtlas, Veracruz. 61-80 pp. En: Rodríguez-Luna E, Cortes-Ortiz L, Martínez –Contreras  
598 J. (Eds). Estudios Primatológicos de México. Veracruz, México.

599 Geist HJ, Lambin EF. 2001. What drives tropical deforestation? A meta-analysis of proximate  
600 and underlying causes of deforestation based on subnational evidence. LUCC Report, 4.

601 Glander K. 1992. Dispersal patterns in Costa Rican mantled howling monkeys. International  
602 Journal of Primatology, 13:415-436.

603 Glander K. 2005. Average body weight for mantled howling monkeys (*Alouatta palliata*): An  
604 assessment of average values and variability. 247-263 pp. En: Estrada A, Garber P,  
605 Pavelka M, Luecke L. (Eds). New Perspectives in the Study of Mesoamerican Primates:  
606 Distribution, Ecology, Behavior, and Conservation. Springer. Nueva York. 616 pp

607 Hanski I, Gilpin ME. 1997. Metapopulation biology: ecology, genetics, and evolution. Academic  
608 Press, San Diego. 696 pp

609 Hanski I. 1996. Metapopulation ecology. In: Rhodes O, Chesser R, Smith, M. 1996. Population  
610 dynamics in ecological space and time. Chicago University Press. 396 pp

- 611 Harrison S. 1994. Metapopulations and Conservation. 111-128pp In: Edwards P, May N, Webb  
612 R. Large scale ecology and conservation biology. Blackwell Scientific Press. Oxford.  
613 388 pp
- 614 Hedrick P, 2000. Genetics of populations. Jones and Bartlett Publishers. Sudbury, Massachusetts.  
615 675 pp
- 616 Hernández-Gómez IU, Ellis EA, Gallo-Gómez CA. 2011. Deforestación y deterioro de las selvas  
617 tropicales de la región Uxpanapa, Veracruz. Disponible en:  
618 [http://www.inegi.org.mx/eventos/2011/Conf\\_Ibero/doc/ET6\\_54\\_HERN%C3%81NDEZ.pdf](http://www.inegi.org.mx/eventos/2011/Conf_Ibero/doc/ET6_54_HERN%C3%81NDEZ.pdf)
- 619 Horwich R. 1998. Effective solutions for howler conservation. International Journal of  
620 Primatology, 19:579–598
- 621 Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny.  
622 Bioinformatics, 17: 754-755.
- 623 INEGI. 2005. Clima de Veracruz. Acceso el 03/03/2012, disponible en [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx)
- 624 INEGI. 2008. IRIS, Información Referenciada Geoespacialmente Integrada en un Sistema.  
625 Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/inegi/default.aspx?c=1362&s=geo>
- 626 Janzen DH. 1983. No park is an island: increase in interference from outside as park size  
627 decreases. Oikos, 41: 402-410
- 628 Kemp TS. 2007. The Origin and Evolution of Mammals. Oxford University Press. Oxford. 342pp
- 629 Knowlton N, Weigt LA. 1998. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of  
630 Panama. Proceedings of the Royal Society of London, 265: 2257–2263.
- 631 Kowalewski MM, Zunino GE. 1999. Impact of deforestation on a population of *Alouatta caraya*  
632 in northern Argentina. Folia Primatologica, 70: 163–166.
- 633 Leigh A. 2009. Quaternary geologists win timescale vote. Nature, 459: 624.
- 634 Lynch M, Crease TJ. 1990. The analysis of population survey data on DNA sequence variation.  
635 Molecular Biology and Evolution, 7:377- 394.

- 636 MacArthur A, Wilson O. 1963. An Equilibrium Theory of Insular Zoogeography. *Evolution*, 17:  
637 373-387
- 638 Machado S. 2011. Filogeografía do bugio ruivo, *Alouatta guariba* (Primates, Atelidae) [MS  
639 dissertation]. Pontificia Universidade Católica do Rio Grande Do Sul. 37 pp.
- 640 Manni F, Guerard E, Heyer E. 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic)  
641 variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Human Biology*, 76:  
642 173-190.
- 643 Marshall LG. 1988. Land mammals and the Great American Interchange. *American Scientist*, 76:  
644 380–388
- 645 Mello F, Gifalli-Iughetti C, Priszkulnik-Koiffman C, Harris E. 2011. Coalescent analysis of  
646 mtDNA indicates Pleistocene divergence among three species of howler monkey  
647 (*Alouatta* spp.) and population subdivision within the Atlantic Coastal Forest species, *A.*  
648 *guariba*. *Primates*, 52:77–87.
- 649 Mbora D, McPeck M. 2010. Endangered species in small habitat patches can possess high  
650 genetic diversity: the case of the Tana River red colobus and mangabey. *Conservation*  
651 *Genetics*, 11: 1725-1735.
- 652 Milton K. 1980. The foraging strategy of howler monkeys; a study in primate economics.  
653 Columbia University Press, New York. 165 pp
- 654 Milton K, Lozier J, Lacey E. 2008. Genetic structure of an isolated population of Mantled howler  
655 monkey (*Alouatta palliata*) on Barro Colorado Island, Panama. *Conservation Genetics*,  
656 10:347–358.
- 657 Mittermeier RA, Goettsch C. 1992. La importancia de la diversidad biológica de México. México  
658 ante los retos de la biodiversidad. CONABIO. México. 57-62 pp.
- 659 Mossman CA, Waser PM. 2001. Effects of habitat fragmentation on population genetic structure  
660 in the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*). *Canadian Journal of Zoology*, 79: 285-  
661 295.
- 662 Murphy D, Freas KE, Weiss SB. 1990. An environmental-metapopulation approach to population  
663 viability analysis for a threatened invertebrate. *Conservation Biology*, 4:41-51

664 Myers N. 1991. Tropical forests: present status and future outlook. *Climatic Change*, 19:3-32

665 Nei M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press. 512 pp

666 Nei M, Li W. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction  
667 endonucleases. *Proceedings of National Academic of Science*, 76:5269-5273.

668 Nunney L. 1993. The influence of mating system and overlapping generations on effective  
669 population size. *Evolution*, 47:1329-1341

670 O'Brien SJ, Roelke ME, Marker L, Newman A, Winkler CA, *et al.* 1985. Genetic basis for  
671 species vulnerability in the cheetah. *Science*, 227: 1428-1434

672 Oklander L, Kowalewski M, Corach D. 2010. Genetic consequences of habitat fragmentation in  
673 black-and-gold howler (*Alouatta caraya*) populations from Northern Argentina.  
674 *International Journal of Primatology*, 31:813-832

675 Packer C, Pusey A, Rowley E, Gilbert H, Martenson J, O'Brien SJ. 1991. Case Study of a  
676 Population Bottleneck: Lions of the Ngorongoro Crater. *Conservation Biology*, 5: 219–  
677 230

678 Pope T. 1992. The influence of dispersal patterns and mating system on genetic differentiation  
679 within and between populations in the red howler monkey (*Alouatta seniculus*).  
680 *Evolution*, 46: 1112-1128

681 Posada D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*,  
682 25:1253–1256.

683 Pozo-Montuy G, Serio-Silva JC. 2007. Movement and resource use by a group of *Alouatta pigra*  
684 in a forest fragment in Balancán, Mexico. *Primates*, 48:102-107.

685 Prugnolle F, Meeus T. 2002. Inferring sex-biased dispersal from population genetic tools: a  
686 review. *Heredity*, 88, 161–165.

687 Rodríguez-Luna E, Solórzano-García B, Shedden A, Rangel-Negrín A, Dias PAD, *et al.* 2009.  
688 Taller de Conservación, Análisis y Manejo Planificado para los primates mexicanos,  
689 2006. Universidad Veracruzana. CBSG/UICN.

690 Ramos-Onsins SE, Rozas J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population  
691 growth. *Molecular Biology and Evolution*, 19:2092–2100.

692 Rogers A, Harpending H. 1992. Population growth makes waves the distribution of pairwise  
693 genetic differences. *Molecular Biology Evolution*, 9: 552-569

694 Rowe N. 1996. *The Pictorial Guide to the Living Primates*. Charlestown, Rhode Island,  
695 Pogonias Press. 263 pp

696 Rozas J, Rozas R. 1999. DnaSP version 3: an integrated program for molecular population  
697 genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics*, 15:174–175

698 Ruiz-García M, Castillo MI, LedezmaA, Leguizamon N, Sánchez R *et al.* 2012. Molecular  
699 Systematics and Phylogeography of *Cebus capucinus* in Colombia and Costa Rica by  
700 means of Mitochondrial COII Gene. *American Journal of Primatology*, 74: 366-380

701 Sánchez O, Pineda MA, Benítez H, González B, Berlanga H. 1998. Guía de identificación para  
702 aves y mamíferos silvestres de mayor comercio en México protegidos por la C.I.T.E.S.  
703 Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP) - Comisión  
704 Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, D.F.

705 Santos T, Tellería JL. 2006. Pérdida y fragmentación del hábitat: efectos sobre la conservación de  
706 las especies. *Ecosistemas*, 2: 3-12.

707 Schlötterer C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109: 365–371.

708 Shaffer M. 1981. Minimum population sizes for species conservation. *BioScience*, 31: 131-134.

709 Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies.  
710 *Genetics*, 139:457-462.

711 Slatkin M, Hudson R. 1991. Pairwise comparison of mitochondrial DNA sequences in stable and  
712 exponentially growing populations. *Genetics*, 129:555-562.

713 Soulé M. 1985. What is conservation biology? *Bioscience*, 35:727-734.

714 Storz JF, 1999. Genetic consequences of mammalian social structure. Jay F. Storz Publications.  
715 *Papers in Biological Science*, Paper 22.

716 Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The ClustalX windows  
717 interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis  
718 tools. *Nucleic Acids Research*, 25:4876-4882.

- 719 Velásquez A, Mas JF, Díaz GJ, *et al.* 2002. Patrones y tasas de cambio de uso de suelo en  
720 México. *Gaceta Ecológica*, 62:21-37.
- 721 Villalobos F.1998. Análisis de la variación genética en la región D-Loop del ADN mitocondrial,  
722 en monos congo (*Alouatta palliata*) de Costa Rica. [MSc. Dissertation] San José  
723 Universidad de Costa Rica CR. 76 pp
- 724 Wang M, Schreiber A. 2001. The impact of habitat fragmentation and social structure on the  
725 population genetics of Roe deer (*Capreolus capreolus* L.) in Central Europe. *Heredity*,  
726 86: 703–715.
- 727 Webb SD. 1976. Mammalian faunal dynamics of the Great American Interchange. *Paleobiology*,  
728 2:216-234.
- 729 Webb T, Bartelin TJ. 1992. Global Changes During the last 3 Million Years: Climatic Controls  
730 and Biotic Responses. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 23:141-173.
- 731 Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure.  
732 *Evolution*, 38:1358-1370.
- 733 Wright S. 1921. Systems of mating. *Genetics*, 6:111-178.
- 734 Young A, Clarke G. 2000. *Genetics, demography and viability of fragmented populations*.  
735 Cambridge University Press. Cambridge. 460 pp
- 736 Zarza-Villanueva H. 2006. Ficha técnica de *Alouatta palliata*. En: Medellín R. (Comp.). Los  
737 mamíferos mexicanos en riesgo de extinción según el PROY-NOM-059-ECOL-2000.  
738 Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-  
739 CONABIO. Proyecto No.W005. México. D.F.

740

741

742

**CUADRO I.** Número de muestras amplificadas de un fragmento de 331 pb del Cit b de pelo de *Alouatta palliata mexicana* por localidad y condición de hábitat en el sur de Veracruz, México.

| Condición de hábitat | Región   | Localidad         | No. de muestras amplificadas |
|----------------------|----------|-------------------|------------------------------|
| HF                   | Centro   | Ixtal             | 8                            |
|                      |          | Rancho los Moreno | 1                            |
|                      |          | Los Ángeles       | 1                            |
|                      | Sur      | Cascajal del Río  | 6                            |
|                      |          | Coatzacoalcos     | 2                            |
|                      |          | Nanchital         | 3                            |
| HC                   | Tuxtlas  | Las Choapas       | 3                            |
|                      |          | Catemaco          | 7                            |
|                      |          | Montepío          | 7                            |
|                      | Uxpanapa | Ruiz Cortines     | 2                            |
|                      |          | Rojo Gómez        | 4                            |
|                      |          | La Palma          | 2                            |
| Total                |          |                   | 46                           |

HF: hábitat fragmentado; HC: hábitat conservado



**CUADRO II.** Número de haplotipos de un fragmento del Cit b de *A. palliata mexicana*, sitios segregados y su frecuencia absoluta en cuatro regiones geográficas de Veracruz.

|                     | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 |        |     |         |          |
|---------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--------|-----|---------|----------|
|                     | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 4 | 4 | 8 | 8 | 4 | 5 | 6 | 9 | 4 | 1 | Centro | Sur | Tuxtlas | Uxpanapa |
|                     | 3 | 4 | 0 | 2 | 8 | 4 | 3 | 6 | 5 | 8 | 8 | 4 | 0 | 0 | 4 | 3 |        |     |         |          |
| <b>Haplotipo 1</b>  | C | C | A | T | G | T | T | A | A | C | T | T | C | T | G | A | 5      | 1   | 2       | 0        |
| <b>Haplotipo 2</b>  | . | . | . | . | . | C | C | . | . | . | C | C | T | C | A | . | 1      | 0   | 0       | 1        |
| <b>Haplotipo 3</b>  | . | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | 8      | 4   | 4       | 5        |
| <b>Haplotipo 4</b>  | . | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | C | 1      | 0   | 0       | 0        |
| <b>Haplotipo 5</b>  | . | . | . | . | A | . | . | . | G | . | . | . | . | . | . | . | 1      | 0   | 2       | 0        |
| <b>Haplotipo 6</b>  | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | C | 0      | 0   | 1       | 0        |
| <b>Haplotipo 7</b>  | . | A | . | . | . | C | C | . | . | T | C | C | T | C | A | . | 0      | 0   | 3       | 0        |
| <b>Haplotipo 8</b>  | . | . | . | . | . | . | . | G | . | . | . | . | . | . | . | . | 0      | 0   | 2       | 0        |
| <b>Haplotipo 9</b>  | . | . | . | . | . | C | C | . | . | T | C | C | T | C | A | . | 0      | 0   | 1       | 0        |
| <b>Haplotipo 10</b> | . | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . | . | . | A | . | 0      | 0   | 1       | 0        |
| <b>Haplotipo 11</b> | T | . | . | . | A | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | 0      | 1   | 0       | 0        |
| <b>Haplotipo 12</b> | . | . | . | C | A | . | . | G | . | . | . | . | . | . | . | . | 0      | 1   | 0       | 0        |
| <b>Haplotipo 13</b> | . | . | G | . | A | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | 0      | 1   | 0       | 0        |

**CUADRO III.** Descriptores de la variabilidad genética y comportamiento poblacional de *A. palliata mexicana* en cuatro regiones en Veracruz.

| Población | n  | S  | H  | Hd   | $\Pi$  | Fu's $F_s$ | R2    | SSD   | Ne     |
|-----------|----|----|----|------|--------|------------|-------|-------|--------|
| Centro    | 16 | 10 | 5  | 0.68 | 0.0049 | -0.21      | 0.171 | 0.03  | 219.25 |
| Sur       | 8  | 5  | 5  | 0.78 | 0.0038 | -2.24*     | 0.139 | 0.01  | 134.65 |
| Tuxtlas   | 16 | 12 | 8  | 0.90 | 0.0139 | -0.179     | 0.205 | 0.09* | 250.68 |
| Uxpanapa  | 6  | 8  | 2  | 0.33 | 0.0086 | 3.69       | 0.373 | 0.15* | 186.66 |
| Total     | 46 | 16 | 13 | 0.76 | 0.0120 | -3.24      | 0.287 | 0.016 | 310.98 |

Número de muestras (n), número de sitios segregados (S), número de haplotipos (H), diversidad de haplotipos (Hd), diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ), F de Fu (Fu's  $F_s$ ), estadístico de Ramos y Rosas (R2), desviación de suma de cuadrados (SSD) y tamaño efectivo de la población (Ne). (\*  $P < 0.05$ ).

**CUADRO IV.** Índice de fijación ( $F_{ST}$ ) y estructura genética por Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) para el fragmento de Cit b de poblaciones de monos aulladores de manto (*A. palliata mexicana*) para cuatro regiones de Veracruz, México.

| Fuente de variación       | g.l. | Suma de cuadrados | Componentes de varianza | % de variación |
|---------------------------|------|-------------------|-------------------------|----------------|
| Entre poblaciones         | 3    | 5.607             | 0.13772 Va              | 27.23          |
| Dentro de las poblaciones | 42   | 15.458            | 0.36806 Vb              | 72.77          |
| Total                     | 45   | 21.065            | 0.50577                 |                |

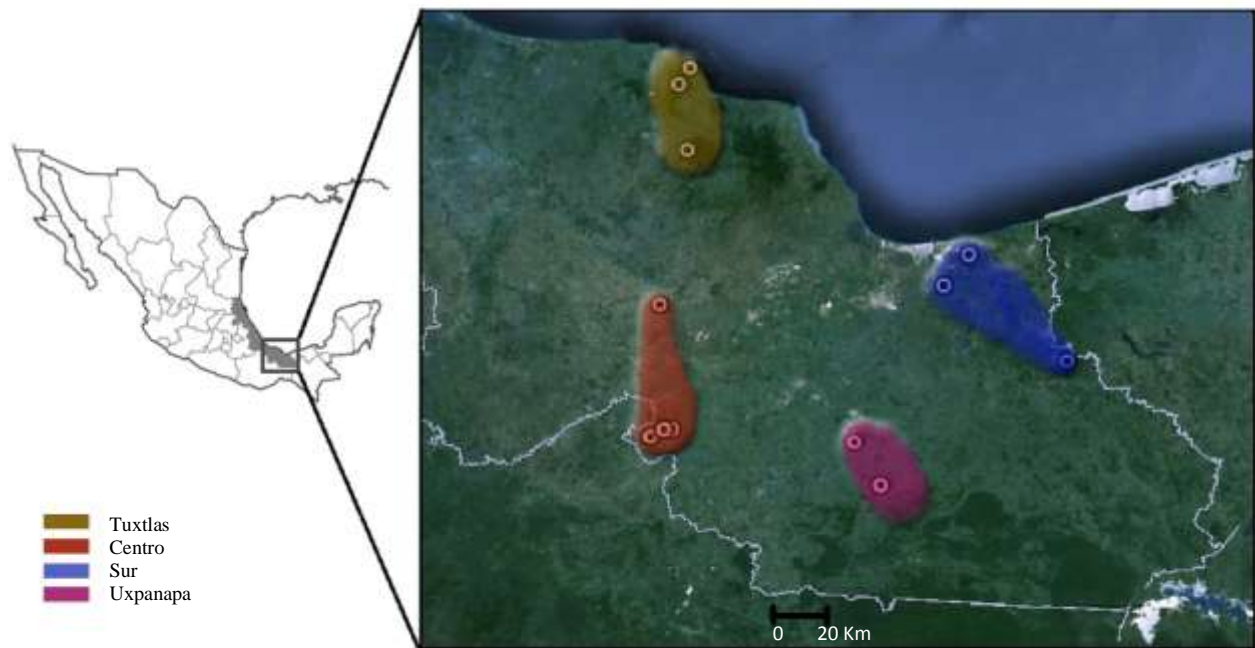
Índice de Fijación  $F_{ST}$ : 0.2723\*

\* $P < 0.01$

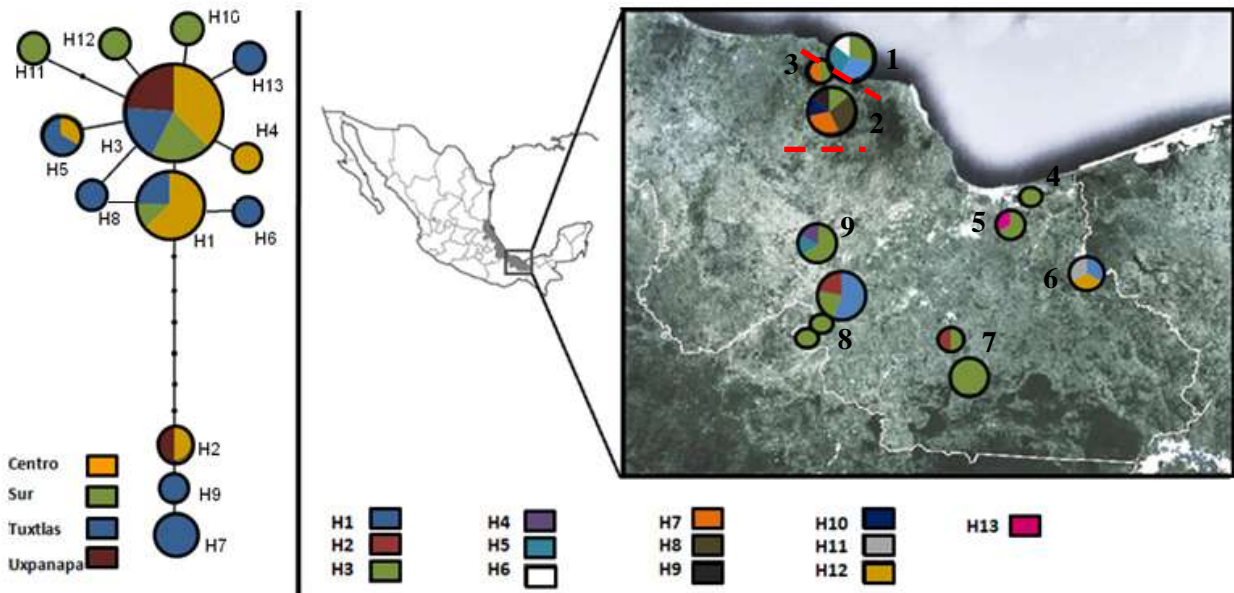
**CUADRO V.** Índice de fijación genética  $F_{ST}$  y numero de migrantes  $Nm$  entre pares de poblaciones de *A. palliata mexicana*.

|          | Centro   | Sur      | Tuxtlas  | Uxpanapa |
|----------|----------|----------|----------|----------|
| Centro   |          | 0.99     | 2.65     | 0.86     |
| Sur      | 0.27299* |          | 1.52     | 0.44     |
| Tuxtlas  | 0.20833* | 0.15084* |          | 1.32     |
| Uxpanapa | 0.44229* | 0.41876* | 0.31723* |          |

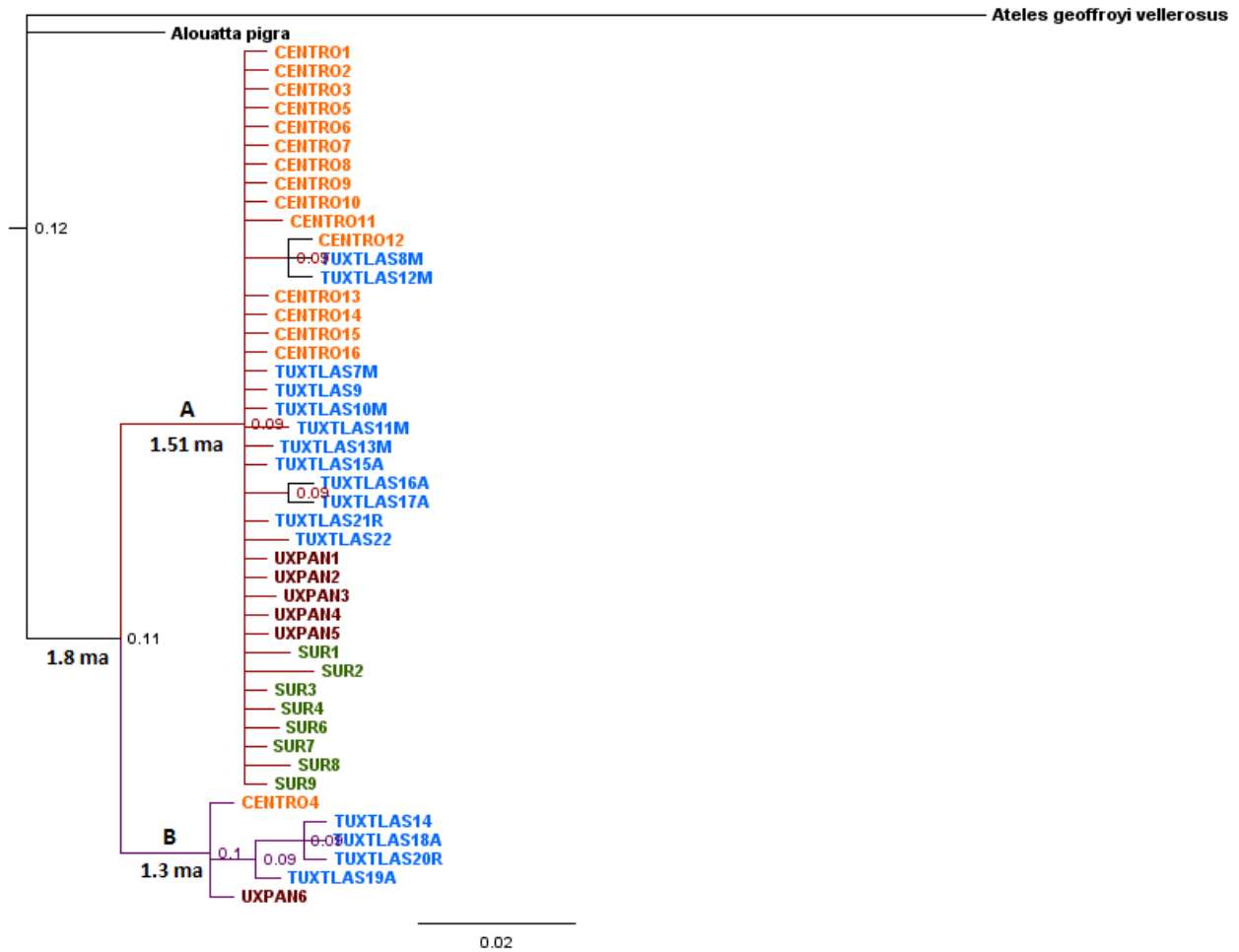
Por debajo de la diagonal se presentan los valores de  $F_{ST}$ . Por arriba de la diagonal se presenta el número de migrantes por generación ( $Nm$ ). El asterisco muestra el valor de significancia al  $P < 0.05$ .



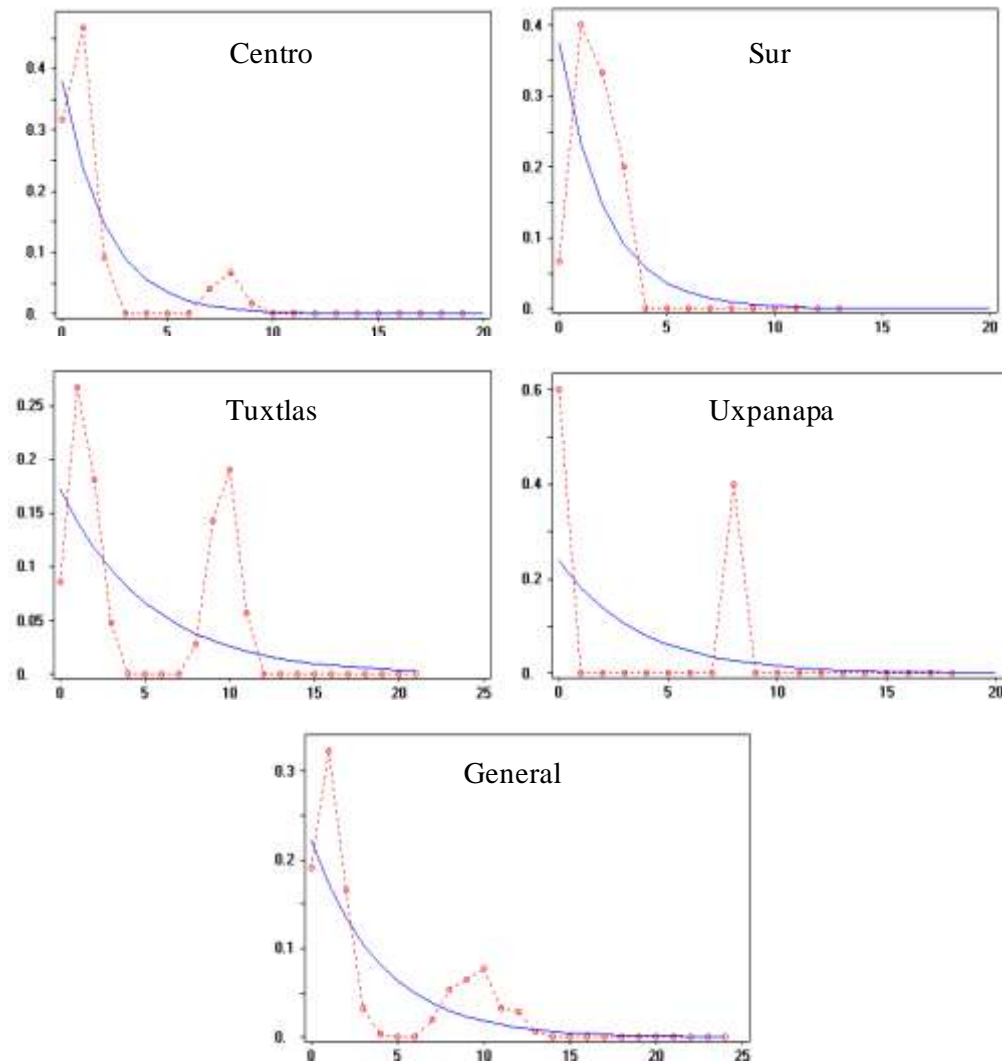
**FIGURA 1.** Ubicación de las cuatro regiones geográficas muestreadas para *A. palliata mexicana* en Veracruz.



**FIGURA 2.** Distribución y red de haplotipos para el fragmento del gen mitocondrial Citocromo b y barreras mostradas por el programa BARRIER. El área de los círculos es directamente proporcional al número de muestras que presentan. Las localidades están indicadas con números en el mapa: (1) Montepío, (2) Catemaco, (3) Ruiz Cortines, (4) Coatzacoalcos, (5) Nanchital, (6) Las Choapas, (7) Rojo Gómez y La Palma, (8) Ixtal, Los Ángeles y Los Moreno, (9) Cascajal del Río. Las líneas punteadas indican las barreras mostradas por BARRIER.



**FIGURA 3.** Genealogía de los individuos recuperada mediante un análisis de inferencia bayesiana. *Ateles geoffroyi* y *Alouatta pigra* representan el grupo externo. Los números por encima de las ramas representan las probabilidades posteriores. La estimación del tiempo de divergencia de los clados, en millones de años (ma), está indicada en negritas.



Diferencias entre pares de secuencias

**FIGURA 4.** Gráficas de la comparación por pares de secuencias de distribución mismatch. La línea sólida representa la distribución esperada bajo un modelo de crecimiento poblacional, mientras que la línea punteada es la distribución observada.



## CAPITULO III

### DISCUSION Y CONCLUSION GENERAL

El estudio de la variabilidad genética provee un entendimiento tanto de procesos evolutivos actuales como históricos que han generado los patrones de biodiversidad, la preservación de los cuales debe ser un componente importante de los planes de conservación. Así mismo, la persistencia a futuro de las poblaciones puede depender de la preservación de componentes específicos de la diversidad genética (Smith *et al.*, 1993). En el presente estudio, se utilizó esta perspectiva para abordar la situación actual de *A. palliata* en Veracruz, donde actualmente se enfrenta a una acelerada pérdida y fragmentación de su hábitat (Estrada y Coates-Estrada *et al.*, 1996).

Los resultados de este estudio indican que la variabilidad genética en *A. palliata mexicana* de Veracruz es de moderada a alta respecto a la que se reporta para otras especies del género *Alouatta*, y alta respecto a lo que se esperaba encontrar por ubicarse al límite norte de la distribución (Ellsworth y Hoelzer, 2006). Aunque no encontramos diferencias significativas en los niveles de variación genética entre poblaciones (medida por la diversidad de haplotipos y de nucleótidos) localizadas en hábitat con distinto nivel de perturbación, si encontramos que existe una alta diferenciación o divergencia entre ellas, que posiblemente no esté relacionado a las condiciones ambientales actuales sino más bien al comportamiento reproductivo y estrategia de apareamiento de la especie (Pope, 1992; Storz, 1999). No obstante, esta alta estructuración genética aunada a la estructura metapoblacional que sugieren los resultados, revela la gran importancia que tiene el mantenimiento de la conectividad entre las poblaciones para la preservación de la especie a nivel regional (Gilpin, 1987, Bouchy *et al.*, 2005) y posiblemente, pueda extrapolarse en toda su distribución en México.

Wang (2004) menciona, que los valores de flujo génico mayores a un individuo por generación son suficientes para mantener la variabilidad genética, compensando los efectos de la deriva génica. Aunque los valores hallados en su mayoría se encuentran por encima de este número (con excepción de la región Uxpanapa), posiblemente esto ya no sea reflejo de la situación actual debido al grado de fragmentación que presenta el hábitat y las poblaciones en el

estado. Al disminuir el número de migrantes, incrementarse la endogamia a nivel local y ocasionar alteraciones en el sistema social y la viabilidad de las poblaciones a largo plazo.

De acuerdo a nuestros resultados que sugieren una alta estructuración genética y un comportamiento metapoblacional de *A. p. mexicana* en Veracruz, los planes de manejo deben ser planteados desde la escala regional (Estada *et al.*, 2002), pues aunque se ha visto que fragmentos pequeños pueden mantener grupos de monos aulladores, su permanencia en una región dependerá no solo de la calidad de la vegetación (Arroyo-Rodríguez y Mandujano, 2006), sino que también del grado de conectividad entre islas o parches de hábitat. Para mantener el flujo génico entre los parches, lo ideal es que se creen corredores anchos de vegetación entre éstos, sin embargo esta estrategia no es viable en gran parte del área de distribución de estos primates en Veracruz. Probablemente una alternativa más local y viable de aplicar sería el promover el uso de cercas vivas, el mantenimiento de la vegetación a los costados de los caminos y en especial la preservación de la vegetación riparia, pues se ha visto que esta última es una de las zonas que mas fauna presenta y funciona como una excelente conexión entre parches de hábitat (Anon, 1966). No obstante, hay regiones donde la pérdida de hábitat es muy grande (p.e. Región Centro) y es muy difícil crear corredores entre los relictos de vegetación representados por parches de pequeño tamaño y gran distancia entre ellos. En este tipo de casos, la translocación de individuos o tropas completas puede ser una opción (Lande y Barrowclough, 1987; Pope, 1996), siempre intentando mantener el linaje, composición y frecuencia de haplotipos naturales de cada región. La translocación de tropas de esta especie se ha llevado a cabo exitosamente en Veracruz (Shedden-González y Rodríguez-Luna, 2010) aunque su propósito en esos casos no fue la conservación a nivel genético, prueba que esta práctica puede ser viable. Sin embargo, cabe señalar que mientras la variabilidad genética puede ser mantenida en un sitio mediante la translocación de individuos entre las poblaciones existentes, los haplotipos que desaparecen por la pérdida de individuos, esencialmente se pierden para siempre. Es por ello, que para lograrla supervivencia de la especie a corto y largo plazo se incluya el atender los problemas más críticos que presenta en la actualidad, como son la continua reducción y pérdida de los fragmentos de bosque. Resolviendo estos problemas se podrá mantener un tamaño poblacional viable y así evitar el rápido decaimiento de la variabilidad genética y consecuencias asociadas.

Por otra parte, para tomar decisiones de conservación más efectivas, es conveniente complementar el estudio, incrementando el número de muestras, en especial para la zona de

Uxpanapa donde el número fue muy reducido debido a la dificultad que implicó localizar a las tropas en un área tan extensa de selva. Así mismo, para hacer una evaluación del estado genético a mayor escala, sería conveniente ampliar la zona de muestreo dentro de la distribución de la especie en México (p. e.: Tabasco y Chiapas). Para este tipo de estudios de genética de la conservación, se ha recomendado utilizar más de un gen, para tener un resultado más robusto (Smith y Wayne, 1996) o el uso de diferentes marcadores moleculares, particularmente de núcleo y/o con distintas tasas de mutación. Dada la importancia de la diversidad genética para la viabilidad a largo plazo de una especie, es importante la realización de un monitoreo de la variabilidad genética de las siguientes generaciones de *A. palliata* en Veracruz, lo que permitiría evaluar el avance del proceso de fragmentación del hábitat y su impacto genético con el paso del tiempo como respuesta a los cambios en sus poblaciones y en hábitat.

Finalmente, aunque nuestros análisis indican que la fragmentación del hábitat no ha tenido un efecto en los niveles de diversidad genética mitocondrial de las poblaciones de *A. palliata* en el estado de Veracruz, a nivel demográfico la especie mantiene alto riesgo por la pérdida de hábitat y pérdida de individuos debido al tráfico ilegal y a la cacería, pudiendo llevar a extinciones locales antes de que se observe un efecto en el estado genético de las poblaciones. Además, la alta diferenciación entre poblaciones dentro de Veracruz, apoya una estrategia de conservación que se enfoque en mantener diversas poblaciones y no solo una de ellas, para preservar el máximo nivel de diversidad genética posible.

## REFERENCIAS

- Aguilar CE, Martínez E, Arriaga L. 2000. Deforestación de Ecosistemas: ¿Qué tan grave es el problema en México? *Biodiversitas*, 5:7-11.
- Aguirre-Planter E. 2007. Flujo génico: métodos para estimarlo y marcadores moleculares. 49-62 pp. En: Eguiarte L, Souza L, Aguirre L. (Eds). *Ecología molecular*. Instituto de Ecología, UNAM y CONABIO. 594 pp.
- Altmann J, Alberts S, Haines S, Dubach J, Muruthi P, Coote T, *et al.* 1996. Behavior predicts genetic structure in a wild primate group. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93: 5797–5801.
- Améndola M, García-Feria L, Serio-Silva JC, Rico-Gray V. 2009. Non invasive collection of fresh hairs from free ranging howler monkeys for DNA extraction. *American Journal of Primatology*, 70:1-5.
- Andren H. 1994. Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat: a review. *OIKOS* 71: 355-366.
- Anon V. 1966. Recomendações para a cultura do coco na Amazonia. *Informações Agrarias*, 26:30-31
- Arroyo-Rodríguez V, Mandujano S, 2006. Forest fragmentation modifies habitat quality for *Alouatta palliata*. *International Journal of Primatology*, 27: 1079-1096.
- Avice, J.C. 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge. 447 pp
- Bicca-Marques J. 2003. How do howler monkeys cope with habitat fragmentation? 283–303 pp. En L. K. Marsh (Ed.). *Primates in fragments: Ecology and conservation*. Springer. Nueva York. 428 pp.
- Bouchy P, Theodorou K, Couvet D. 2005. Metapopulation viability: influence of migration. *Conservation Genetics*, 6: 75–85.
- Brown W, George M., Wilson A. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial-DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76: 1967-1971.

- Carpenter CR. 1934. A field study of the behavior and social relations of howling monkeys (*Alouatta palliata*). *Comparative Psychology Monographs*, 10:1–168.
- Ceballos G, Oliva G. 2005. Los mamíferos silvestres de México. CONABIO-Fondo de Cultura Económica. México. 988 pp
- Chazaro M. 1986. La vegetación. Evaluación de los impactos ambientales y sociales de la industria petrolera en el sureste y Golfo de México. Centro de Ecodesarrollo. México, D.F. 94 pp
- CITES. 2012. Appendices I, II and III. Descargado el 09/04/12, disponible en: <http://www.cites.org/eng/app/appendices.php>
- CONABIO. 2008. Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. 621 pp
- Cowlishaw G, Dunbar R. 2000. *Primate Conservation Biology*. The University of Chicago Press. Londres. 498 pp
- Crockett C. 1998. Conservation biology of the genus *Alouatta*. *International Journal of Primatology*, 19: 549–578.
- Cuarón AD, Shedden A, Rodríguez-Luna E, de Grammont PC, Link A. 2008. *Alouatta palliata* ssp. *mexicana*. En: IUCN Red List of Threatened Species. Descargado el 10/04/12, disponible en [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org).
- Di Fiore A, Campbell C. 2007. The Atelines: Variation in ecology, behavior, and social organization. En: Campbell, C., Fuentes, A., MacKinnon K., Panger, M. y Bearder, S. (Eds). *Primates in perspective*. Oxford University Press. 155-185 pp
- Diario Oficial de la Federación. 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. 30 de diciembre de 2010 México D.F.
- Duarte-Dias A. 2007. Relaciones sociales entre machos *Alouatta palliata* en los Tuxtlas, México: Variaciones de función de factores sociodemográficos y ecológicos. [Tesis de Doctorado]. Universidad Autónoma de Madrid.

- Duarte QA, Estrada A. 2003. A. Primates as pets in Mexico City: An assessment of the species involved, source of origin, and general aspects of treatment. *American Journal of Primatology*, 61:53-60.
- Ellis EA, Martínez-Bello M, Monrroy-Ibarra R. 2011. Focos rojos para la conservación de la biodiversidad en el estado de Veracruz. CONABIO.
- Escobedo-Morales L, Mandujano S. 2007. Viabilidad metapoblacional del mono aullador (*Alouatta palliata mexicana*) en un paisaje altamente fragmentado de Los Tuxtlas, México. 421-450 pp. En: Hervey, C.A. y J.C. Sáenz (Eds.) Evaluación y conservación de la biodiversidad en paisajes fragmentados en Mesoamérica. Instituto Nacional de Biodiversidad (InBio), Santo Domingo de Heredia, Costa Rica.
- Esposti DM, De Vries S, Crimi M., Ghelli A, *et al.* 1993. Mitochondrial Cytochrome b: evolution and structure of the protein. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1143:243–271.
- Estrada A. 1982. Survey and census of howler monkeys (*Alouatta palliata*) in the rain forest of “Los Tuxtlas” Veracruz, México. *American Journal of Primatology*, 2:363–372.
- Estrada A, Anzures A, Coates-Estrada R. 1999. Tropical rain forest fragmentation, howler monkeys (*Alouatta palliata*), and dung beetles at Los Tuxtlas, Mexico. *American Journal of Primatology*, 48: 253-262.
- Estrada A, Coates-Estrada R. 1988. Tropical rain forest conversión and prespectives in the conservation of wild primates (*Alouatta* and *Ateles*) in Mexico. *American Journal of Primatology*, 14: 315-327.
- Estrada A, Coates-Estrada R. 1994. La contracción y fragmentación de las selvas u las poblaciones de primates silvestres: el caso de Los Tuxtlas, Veracruz. *La Ciencia y el Hombre*, 18:45-70.
- Estrada, A. y Coates-Estrada. R. 1995. Las selvas tropicales de México. Fondo de Cultura Económica. Serie la Ciencia desde México. 132 pp
- Estrada, A. y Coates-Estrada, R. 1996. Tropical rain forest fragmentation and wild populations of primates at Los Tuxtlas, Mexico. *International Journal of Primatology*, 17: 759-783

- Estrada A, Mendoza A, Castellanos L, Pacheco R, Van Belle S, García Y, Muñoz D. 2002. Population of the black howler monkey (*Alouatta pigra*) in a fragmented landscape in Palenque, Chiapas, México. *American Journal of Primatology*, 58:45-55.
- Fahrig L. 2003. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 34:487–515.
- Fletcher AL. 2008. Mendel's Ark: Conservation Genetics and the Future of Extinction. *Review of Policy Research*, 25: 598–607.
- Fletcher RJ. 2005. Multiple edge effects and their implications in fragmented landscapes. *Journal of Animal Ecology*, 74: 342-352
- Frankham R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology* 10: 1500-1508.
- Garcia-Chiarello A. 1993. Activity pattern of the brown howler monkey *Alouatta fusca* Geoffroy 1812, in a forest fragment of southeastern Brazil. *Primates* 34:289-293.
- García del Valle Y, Estrada A, Espinoza E, Lorenzo C, Naranjo, E. 2005. Genética de poblaciones de monos aulladores (*Alouatta pigra*) en hábitat continuo y fragmentado en la Selva Lacandona, México: un estudio preliminar. *Universidad y Ciencia* 2:55-60.
- García-Orduña F. 1995. Fragmentación del hábitat y demografía de primates en la región de Los Tuxtlas, Veracruz. 61-80 pp. En: *Estudios Primatológicos de México*. Rodríguez-Luna, E., Cortes-Ortiz, L. y Martínez –Contreras, J. (Eds). Veracruz, México. Biblioteca de la Universidad Veracruzana.
- García-Orduña F. 1996. Distribución y abundancia del mono aullador *Alouatta palliata* y el mono araña *Ateles geoffroyi* en fragmentos de selva del municipio de San Pedro Soteapan, Veracruz. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Veracruzana. Xalapa, México.
- Geist HJ, Lambin EF. 2001. What drives tropical deforestation? A meta-analysis of proximate and underlying causes of deforestation based on subnational evidence. *LUCC Report*, 4. 116 pp
- Gilbert KA, Stouffer PC. 1989. Use of a ground water source by mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*). *Biotropica*, 21:380

- Gilpin M. 1987. Spatial structure and population vulnerability. 125-139 pp. En: Soulé M (Ed). Viable populations for conservation. Cambridge University Press. Cambridge. 189 pp
- Glander KE. 1975. Habitat description and resource utilization: an ecological view of social organization in mantled howler monkeys. En: Tuttle RH (Ed). Socioecology, and Psychology of Primates. The Hague, Mouton, pp. 37-57
- Glander KE. 1992. Dispersal patterns in Costa Rican mantled howling monkeys. International Journal of Primatology, 13:415-436.
- Glander KE. 2005. Average body weight for mantled howling monkeys (*Alouatta palliata*): An assessment of average values and variability. En: Estrada, A., Garber, P., Pavelka, M. y Luecke, L. (Eds). New Perspectives in the Study of Mesoamerican Primates: Distribution, Ecology, Behavior, and Conservation. Springer. Nueva York. 247-263 pp
- Hansson L, Fahrig L. y Merriam G. 1995 (Eds.). Mosaic landscapes and ecological processes. Chapman & Hall. 359 pp
- Hayashi J, Tagashira Y, Yoshida M. 1985. Absence of extensive recombination between interspecies and intraspecies mitochondrial-DNA in mammalian-cells. Experimental Cell Research, 160: 387-395
- Hedrick P. 2000. Genetics of populations. Jones and Bartlett Publishers. Sudbury, Massachusetts. 675 pp
- Hendrick P. 2001. Conservation genetics: where are we now? Trends in Ecology and Evolution, 11:629-636.
- Hedrick P, Miller P. 1992. Conservation genetics: techniques and fundamentals. Ecological Applications , 2:30-46.
- Hernández-Gómez IU, Ellis EA, Gallo-Gómez CA. 2011. Deforestación y deterioro de las selvas tropicales de la región Uxpanapa, Veracruz. Consultado el 18/03/2011. Disponible en [http://www.inegi.org.mx/eventos/2011/Conf\\_Ibero/doc/ET6\\_54\\_HERN%C3%81NDEZ.pdf](http://www.inegi.org.mx/eventos/2011/Conf_Ibero/doc/ET6_54_HERN%C3%81NDEZ.pdf)
- Horwich R. 1998. Effective solutions for howler conservation. International Journal of Primatology, 19: 579-598.



- Janzen DH. 1983. No park is an island: increase in interference from outside as park size decreases. *OIKOS*, 41: 402-410.
- Jiménez HJ. 1992. Distribución y abundancia del recurso alimenticio en un fragmento de selva alta perennifolia y su uso por *Ateles* y *Alouatta* en el ejido Magallanes (Municipio de Soteapan, Veracruz) [Tesis de Licenciatura] Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México.
- Kowalewski M, Zunino GE. 1999. Impact of deforestation on a population of *Alouatta caraya* in northern Argentina. *Folia Primatologica*, 70: 163–166.
- Lande R, Barrowclough G. 1987. Effective population size, genetic variation, and their use in population management. 87-123 pp. En: Soulé M (Ed). *Viable populations for conservation*. Cambridge University Press. Cambridge. 189 pp
- Laurence W. 1991. Edge effects in forest fragments: Applications of a model for the design of nature reserves. *Biological Conservation*, 57: 205-219.
- Laurence W. 2007. Ecosystem decay of Amazonian forest fragments: implications for conservation. 9-35 pp. En: Tschardt T, Leuschner C, Zeller M., Guhardja M, Bidin E, A (Ed). *Stability of Tropical Rainforests Margins*. Springer. Nueva York. 493 pp
- Leigh SR, Setchell JM, Charpentier M, Knapp LA, Wickings EJ. 2008. Canine tooth size and fitness in male mandrills (*Mandrillus sphinx*). *Journal of Human Evolution*, 55: 75–85.
- Liu Z, Ren B, Wu R, Zhao L, Hao Y, Wang B, Wei F, Long Y, Li M. 2009. The effect of landscape features on population genetic structure in Yunnan snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus bieti*) implies an anthropogenic genetic discontinuity. *Molecular Ecology*, 18: 3831–3846.
- Ma Z, Luo Y, Michailides TJ. Nested PCR Assays for detection of *Monilinia fructicola* in Stone Fruit Orchards and *Botryosphaeria dothidea* from Pistachios in California. *Journal of Phytopathology*, 151: 312-322.
- Mandujano S, Estrada A. 2005. Detección de umbrales de área y distancia de aislamiento para la ocupación de fragmentos de selva por monos aulladores, *Alouatta palliata*, en Los Tuxtlas, México. *Universidad y Ciencia*, 2: 11-21

- Mbora D, McPeck M. 2010. Endangered species in small habitat patches can possess high genetic diversity: the case of the Tana River red colobus and mangabey. *Conservation Genetics*, 11:1725-1735.
- Milton K. 1980. *The foraging strategy of howler monkeys; a study in primate economics*. Columbia University Press, New York. 165 pp
- Milton K, Lozier J, Lacey E. 2008. Genetic structure of an isolated population of mantled howler monkey (*Alouatta palliata*) on Barro Colorado Island, Panama. *Conservation Genetics*, 10:347–358.
- Mittermeier RA, Cheney DL. 1987. Conservation of primates and their habitats. 477-490 pp. En: Smuts B, Cheney D, Seyfarth R, Wrangham R, Struhsaker T. (Eds.) *Primate Societies*. University of Chicago Press, Chicago.
- Myers N. 1991. Tropical forests: present status and future outlook. *Climatic Change*, 19:3-32.
- Meyer A. 1993. Evolution of mitochondrial DNA in fishes. 1–38 pp. En: Hochachka, Mommsen (Eds) *Biochemistry and molecular biology of fishes*. Elsevier, Amsterdam. 484 pp
- Oklander L, Kowalewski M, Corach D. 2010. Genetic consequences of habitat fragmentation in black-and-gold howler (*Alouatta caraya*) populations from Northern Argentina. *International Journal of Primatology*, 31:813-832.
- Onderdonk DA, Chapman CA. 2000. Coping with forest fragmentation: the primates of Kibale National Park, Uganda. *International Journal of Primatology*, 21:587-611.
- Pope T. 1992. The influence of dispersal patterns and mating system on genetic differentiation within and between populations in the red howler monkey (*Alouatta seniculus*). *Evolution*, 46: 1112-1128.
- Pope T. 1996. Socioecology, population fragmentation, and patterns of genetic loss in endangered primates. 119-159 pp. En: Avise J, Hamrick J. *Conservation Genetics: case histories from nature*. Chapman and Hall, New York. 512 pp
- Pozo-Montuy G. 2003. Comportamiento de Monos Aulladores (*Alouatta pigra*) en Hábitat Fragmentado, en la ranchería Leona Vicario, Balancán, Tabasco. [Tesis de Licenciatura]. División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tabasco. 54 pp

- Pozo-Montuy G. 2006. Efecto del uso del suelo sobre la configuración del paisaje, la distribución y la abundancia del mono aullador negro (*Alouatta pigra*) en el municipio de Balancán, Tabasco, México. [Tesis Maestría]. Instituto de Ecología, A.C. 56 pp
- Pozo-Montuy G, Serio-Silva JC. 2006. Comportamiento alimentario de monos aulladores negros (*Alouatta pigra* Lawrence, Cebidae) en hábitat fragmentado en Balancán, Tabasco, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 22: 53-66.
- Pozo-Montuy G, Serio-Silva JC. 2007. Movement and resource use by a group of *Alouatta pigra* in a forest fragment in Balancán, México. *Primates*, 48:102-107.
- Primack R. 1995. A primer of conservation biology. Sinauer- Sunderland. USA, 277 pp.
- Ralls K, Ballou JD, Templeton A. 1988. Estimates of lethal equivalents and the cost of inbreeding in mammals. *Conservation Biology*, 2:185-193.
- Ramírez-Julián R. 2010. Respuestas conductuales de monos aulladores negros, *Alouatta pigra*, viviendo en remanentes de vegetación entre pastizales en Balancán, Tabasco [Tesis de maestría. Instituto de Ecología AC. 84 pp.
- Rocha-Olivares A, Rosenblatt RH, Vetter RD. 1999. Molecular evolution, systematics, and zoogeography of the rockfish subgenus *Sebastes* (*Sebastes scorpaenidae*) based on mitochondrial cytochrome b and control region sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 11:441-458.
- Rodríguez-Luna E, Solórzano-García B, Shedden A, Rangel-Negrín A, *et al.* 2009. Taller de Conservación, Análisis y Manejo planificado para los primates mexicanos. Universidad Veracruzana. CBSG México.
- Rowe N. 1996. The Pictorial Guide to the Living Primates. Charlestown, Pogonias Press. Rhode Island. 263 pp
- Rylands A, Groves C, Langguth A, y Rodríguez-Luna E. 2000. An assessment of the diversity of new world primates. *Neotropical Primates*, 8:61-93.
- Sánchez O, Pineda M, Benítez H, González B, Berlanga H. 1998. Guía de identificación para aves y mamíferos silvestres de mayor comercio en México protegidos por la C.I.T.E.S.

Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP) - Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, D.F.

- Santos T, Tellería JL. 2006. Pérdida y fragmentación del hábitat: efectos sobre la conservación de las especies. *Ecosistemas*, 2: 3-12.
- Serio-Silva JC, Rico-Gray V. 2000. Use of a stream by Mexican howler monkeys. *The Southwestern Naturalist*, 45: 332-333.
- Shedden-González A, Rodríguez-Luna E. 2010. Responses of a translocated howler monkey *Alouatta palliata* group to new environmental conditions. *Endangered Species Research*, 12: 25–30.
- Silva-López G. 2005. *Alouatta pigra* Lawrence, 1933, Mono aullador negro, Saraguato negro. 340-342 pp. En: Ceballos G, Oliva (Eds). *Los mamíferos silvestres de México*. CONABIO y Fondo de Cultura Económica. México. 986 pp.
- Silva-López G, Rodríguez J, Jiménez-Huerta J. 1993. Uso del hábitat por monos araña (*Ateles geoffroyi*) y aullador (*Alouatta palliata*) en áreas perturbadas. En: Avances en el estudio de los mamíferos de México. Medellín R, Ceballos G (Eds). *Publicaciones especiales, Asociación Mexicana de Mastozoología*, México, DF. 464 pp.
- Silver SC, Marsh LK. 2003. Dietary flexibility, behavior plasticity and survival in fragments: lessons from translocated howlers. 251-264pp. En: Marsh LK (Ed). *Primates in fragments: ecology and conservation*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. 428 pp.
- Smith TB. 1993. Disruptive selection and the genetic basis of bill size polymorphism in the African finch *Pyrenestes*. *Nature*, 363:618-621.
- Smith TB, Wayne RK (Eds).1996. *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. Oxford University Press, Oxford. 483 pp.
- Soulé M. 1985. What is conservation biology? *Bioscience*, 35:727-734.
- Storz JF, 1999. *Genetic Consequences of Mammalian Social Structure*. Jay F. Storz Publications, Paper 22.
- Sturmbauer C, Meyer, A. 1992. Genetic divergence, speciation, and morphological stasis in a lineage of African cichlid fishes. *Nature*, 359:578–581.

- Toledo V. 1994. La diversidad biológica de México: nuevos retos para la investigación en los noventas. *Ciencias*, 34:43-57.
- Tutin CE, White L. 1999. The recent evolutionary past of primate communities: likely environmental impacts during the past three millennia. 220-236 pp. En: Fleagle, J., Janson, C. y Reed, K. (Eds.) *Primate Communities*. Cambridge University Press. Cambridge, MA. 339 pp.
- Van Belle S, Estrada A. 2005. Cambios demográficos en poblaciones de monos aullador negro (*Alouatta pigra*) como consecuencia de la fragmentación del hábitat. *Universidad y Ciencia*, 2:1-9.
- Velásquez A, Mas JF, Díaz GJ, Mayorga RS, Alcántara PC, *et al.* 2002. Patrones y tasas de cambio de uso de suelo en México. *Gaceta Ecológica*, 62:21-37.
- Wang J. 2004 Application of the one migrant per generation rule to conservation and management. *Conservation Biology*, 18:332-343.
- Watts ES, Rico-Gray V, Chan C. 1986. Monkeys of the Yucatan Peninsula, México: preliminary survey of their conservation status. *Primate Conservation*, 7:17-22.
- Wilson EO. 1992. *The Diversity of Life*. Harvard University Press. 424 pp
- Wright S. 1921. Systems of mating. *Genetics*, 6:111-178
- Wright S. 1978. *Evolution and the genetics of populations*. Volume 4. Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.
- Young A, Clarke G. (Eds). 2000. *Genetics, demography and viability of fragmented populations*. Cambridge University Press, Cambridge. 460 pp
- Zaldivar ME, Glander KE, Rocha O, Aguilar G, Vargas E, *et al.* 2003. Genetic variation of mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*) from Costa Rica. *Biotrópica*, 35:375-381.
- Zarza-Villanueva H. 2006. Ficha técnica de *Alouatta palliata*. 1-7 pp. En: Medellín, R. (Comp). *Los mamíferos mexicanos en riesgo de extinción según el PROY-NOM-059-ECOL-2000*. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No.W005. México.D.F. 7 pp