

Este artículo puede ser usado únicamente para uso personal o académico. Cualquier otro uso requiere permiso del autor o editor.

El siguiente artículo fue publicado en *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 6(30): 06-19 (2015); y lo puede consultar en <http://cienciasforestales.inifap.gob.mx/>



Ensayo Técnico / Technical Essay

La genómica en la investigación científica y en la gestión de la vida silvestre en México

The use of Genomics in scientific research and management of wildlife in Mexico

Julio César Canales-Delgadillo¹, Leonardo Chapa Vargas², Mauricio Cotera Correa³
y Laura Magdalena Scott-Morales³

Resumen

México alberga una diversidad biológica excepcional que lo coloca entre los principales países megadiversos, pues posee tres de las 34 ecorregiones del mundo y zonas consideradas áreas silvestres a nivel mundial, como los desiertos de Chihuahua, Sonora y California; su importancia radica en que reúne alrededor de 70 % de su hábitat original en buenas condiciones y una densidad poblacional humana menor a 5 habitantes km². El uso de la genómica como herramienta en la investigación científica en este país tuvo sus inicios a finales de 1930 con trabajos encaminados al mejoramiento genético de cultivos comerciales y a entender los fundamentos ecológicos de la variación genética en *Drosophila pseudoobscura*, pero hasta los años 80 y 90 comenzó el estudio de la flora y la fauna bajo esa perspectiva. Sin embargo, a pesar del potencial que las técnicas genómicas ofrecen para mejorar el desarrollo de estrategias y políticas de gestión que aseguren la producción de alimentos y la preservación de especies, no han sido extensamente utilizadas. Se presenta una revisión de las áreas del conocimiento en la vida silvestre en las que la genómica ha sido incorporada para abordar poblaciones naturales y se discuten los aspectos en los que puede incidir dentro del manejo y conservación de taxa de importancia biológica y comercial.

Palabras clave: ADN, conservación, genómica, manejo, marcadores moleculares, vida silvestre.

Abstract

Mexico has a unique biodiversity that places it within the list of megadiverse countries; it has three of the 34 ecoregions of the world and sites that are considered wilderness areas worldwide. The use of Genomics as a tool for research in Mexico began in the late 1930s with work aimed at the genetic improvement of commercial crops and to understand the ecological foundations of the genetic variation in *Drosophila pseudoobscura*, however, it wasn't until the decades of 1980-1990s that these tools were used for the study of natural populations of flora and fauna with purposes of conservation and management. Nonetheless, the potential that genomic tools have to improve the strategies and policies of management to ensure food production and conservation of wildlife in Mexico, these have not been widely applied. In this paper the areas of knowledge in wildlife where genomics have been applied in the study of natural populations of flora and fauna in Mexico were reviewed, and the practical applications of genomics for management and conservation of species of biological and commercial concern were discussed.

Key words: DNA, conservation, Genomics, management, molecular markers, wildlife.

Fecha de recepción/date of receipt: 6 de octubre de 2014; Fecha de aceptación/date of acceptance: 12 de febrero de 2015.

¹ Ducks Unlimited de México A. C. Correo-e: jccanales@dumac.org

² Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.

³ Facultad de Ciencias Forestales Universidad Autónoma de Nuevo León.

Introducción

La excepcional riqueza de vertebrados y plantas vasculares con la que cuenta México ha valido para que sea reconocido como uno de los países megadiversos en el mundo; posee tres de las 34 ecorregiones del planeta: los bosques de pino-encino de las Sierras Madre, la ecorregión de Mesoamérica y la provincia florística de California (Myers *et al.*, 2000; Conabio, 2000). Además, los desiertos de Chihuahua, Sonora y California son considerados áreas silvestres, cuya importancia radica en reunir alrededor de 70 % de su hábitat original en buenas condiciones y una densidad poblacional humana menor a 5 habitantes km⁻² (Conabio, 2006).

Si bien en los últimos años se han realizado grandes esfuerzos para caracterizar la biota mexicana, aún existen varios grupos taxonómicos como peces, anfibios y plantas vasculares que requieren investigaciones precisas sobre los procesos ecológicos que los afectan, de sus tamaños poblacionales y del estado de la diversidad genética en cada taxon (Llorente y Ocegueda, 2008). La diversidad genética de las poblaciones está influida por factores naturales como incendios, inundaciones, etcétera, pero también por el desarrollo de actividades humanas tales como cambios de uso de suelo, contaminación ambiental y alteración del hábitat, lo que la reduce y modifica las frecuencias alélicas, que es el principio de la pérdida de variabilidad genética (Bolger *et al.*, 1991; Soulé y Mills, 1992; Pimm y Raven, 2000).

La destrucción de hábitat afecta el comportamiento de las especies, propicia cambios en el apareamiento y activa la selección sexual no azarosa, lo que rompe uno de los principios primordiales de la selección natural y acelera la erosión genética (Freeland, 2005). La pobre variación genética, a su vez, induce la disminución de las tasas de supervivencia de las crías así como de la eficacia de la respuesta inmune y, en última instancia, favorece la extinción de los taxa por una reducción de la adaptabilidad evolutiva ante cambios ambientales (Johannesson y André, 2006).

La evaluación de los factores genéticos y ambientales que inciden en la demografía de las poblaciones se lleva a cabo a través del uso de marcadores moleculares en las áreas de investigación, gestión y conservación. A pesar del gran potencial para diseñar estrategias de preservación de especies con importancia biológica y económica, en México la aplicación de dichas metodologías ha sido limitada, en parte, porque la información está dispersa, lo que sugiere que existe la necesidad de contar con un referente acerca de las técnicas disponibles para el estudio genético de las poblaciones naturales en el país.

En esta revisión se hace una síntesis de los estudios realizados con especies mexicanas y sobre temas relevantes para la conservación de recursos naturales que han utilizado

Introduction

Mexico's exceptional richness of species of vertebrates and vascular plants has made it to be recognized as one of the mega-diverse countries in the world; it owns three of the 34 ecoregions of the planet: the pine-oak forests of the *Sierras Madre*, the ecoregion of Mesoamerica and the floristic province of California (Myers *et al.*, 2000; Conabio, 2000). In addition, the global deserts of *Chihuahua*, *Sonora* and *California* are considered wilderness areas, whose importance lies in bringing together around 70 % of its original habitat in good condition and a human population density of less than 5 inhabitants km⁻² (Conabio, 2006).

While in recent years great efforts have been made to characterize the Mexican biota, there are still several taxa such as fish, amphibians and vascular plants, which require studies that approach to an accurate knowledge of the ecological processes that affect them, their population sizes and the state of the genetic diversity in each taxon (Llorente and Ocegueda, 2008). The genetic diversity of wild populations is influenced by natural factors such as fires, floods, etc., but also by the development of human activities such as land use changes, environmental pollution and habitat modification, which reduce the population numbers and produces changes in allele frequencies, which is the beginning of the loss of genetic variability (Bolger *et al.*, 1991; Soule and Mills, 1992; Pimm and Raven, 2000).

Habitat destruction affects the behavior of the species and promotes changes in mating, and activates not random sexual selection, which breaks one of the fundamental principles of natural selection and genetic erosion accelerates (Freeland, 2005). Poor genetic variation, in turn, induces a reduction in the rates of pup survival, reduces the effectiveness of the immune response and ultimately favors the extinction of species by reducing the evolutionary adaptability to environmental changes (Johannesson and André, 2006).

The assessment of genetic and environmental factors affecting the demography of the population is carried out through the use of molecular markers in the areas of research, management and conservation of wildlife. Despite the large potential for designing strategies for the preservation of species of biological and economic importance, in Mexico the application of these methodologies has been limited, partly because information is dispersed, suggesting that there is a need to have a reference about the available techniques for the genetic study of natural populations in the country.



técnicas genómicas y metagenómicas, desde los inicios de la disciplina de la genética de conservación en el país hasta la fecha. Se describen brevemente las técnicas moleculares más avanzadas para la generación de datos útiles en la planeación del manejo, conservación y aproximación a la vida silvestre. Y, por último, se presenta una integración de las áreas del conocimiento relacionadas a lo anterior en las que la genómica puede tener aplicaciones prácticas.

Se espera que a partir de la lectura de este documento, quienes pretendan abordar tópicos referentes a los aspectos genéticos de la vida silvestre en México obtengan los elementos necesarios para iniciar sus investigaciones, independientemente del nivel de experiencia sobre el particular.

La genómica en el estudio de poblaciones naturales

El uso de la genómica en México se inició entre 1930 y 1970 con los trabajos realizados por Edmundo Taboada y Theodosius Dobzhansky, cuyo objetivo primordial era el mejoramiento genético del maíz y del trigo, además de entender los fundamentos ecológicos de la variación genética en poblaciones naturales de *Drosophila pseudoscura* Frolova & Astaurov, 1929, respectivamente (Piñeiro *et al.*, 2008a). A partir de entonces, los grupos dedicados a la genómica comenzaron a diversificar sus líneas de investigación y en la década de 1980 incluyeron aplicaciones biotecnológicas, de regulación y expresión genética en bacterias y plantas, así como de genética de poblaciones naturales de flora y fauna.

Coello *et al.* (1993) abordaron la genética de la conservación en México; utilizaron aloenzimas para evaluar la variabilidad genética de una saprófita rara, *Lacandonia schismatica* E. Martínez & Ramos, misma que, al ser casi nula, se le relacionó con el tan reducido tamaño poblacional de la especie. Los autores argumentaron que para preservar la población existente era necesario mantener el hábitat en condiciones ideales y con esto establecieron uno de los primeros antecedentes del uso de información genética como parte de un plan de conservación.

En los años siguientes el interés por conocer el estado de la diversidad genética de otros taxa y creció, y con ello, el número de trabajos realizados. Sin embargo, este esfuerzo estaba lejos de ser representativo de la biota mexicana. Una recopilación del número de publicaciones sobre variación genética en especies mexicanas demostró que hasta 2008, tales documentos por grupo taxonómico representaban más de 1 %, respecto al número de especies registradas en el país. Se resaltó que solo 11 de microorganismos habían sido investigadas hasta entonces (Piñeiro *et al.*, 2008b), lo que pone en evidencia el rezago en relación a otras naciones.

En la última década, la creciente disponibilidad de marcadores moleculares, el acceso a bases de datos internacionales

This review summarizes the studies of Mexican species and issues relevant to the conservation of natural resources that have used genomic and metagenomic techniques, from the beginnings of the discipline of conservation genetics in the country to nowadays. The most advanced molecular techniques are briefly described for the generation of useful data management planning, conservation and wildlife study. And finally, an integration of the areas of knowledge in wildlife where genomics can have practical applications is presented.

It is expected that from reading the actual document, those who pretend to get involved into topics that refer to the genetic aspects of wildlife in Mexico get the necessary elements to start their research, regardless of the experience they have.

Genomics in the study of natural populations in Mexico

The use of Genomics as a research tool in Mexico began between the 1930s and 1970s with the contribution of Edmundo Taboada and Theodosius Dobzhansky, whose primary objective was the breeding of corn and wheat and the understanding of the ecological foundations of this genetic variation in natural populations of *Drosophila pseudoscura* Frolova & Astaurov, 1929, respectively (Piñeiro *et al.*, 2008a). After that, groups dedicated to genomics in Mexico began to diversify its research and in 1980 these lines started to include biotechnological applications, regulation and gene expression in bacteria and plants, and genetics of natural flora and fauna populations.

Coello *et al.* (1993) began with the conservation genetics in Mexico; they used allozymes to assess the genetic variability of a rare saprophytic plant, *Lacandonia schismatica* E. Martínez & Ramos, same as, being almost zero, was linked with the much-reduced population size of the species. The authors argued that to preserve the existing population was necessary to keep the habitat in ideal conditions and with that settled one of the records of the use of genetic information as part of a conservation plan in Mexico.

In the following years the interest in knowing the state of the genetic diversity of other species grew, and with it, the number of work performed. However, this effort was far from being representative of Mexican biota. A compilation of the number of papers published in Mexican species genetic variation showed that until 2008, publications by taxonomic group representing more than 1 % over the number of species recorded in the country. It was stressed that only eleven species of microorganisms had been investigated previously (Piñeiro *et al.*, 2008b), which highlights the lag in this field of research with respect to other nations.



(GenBank, EMBL), además de la creciente oferta de equipos y materiales para estudios genéticos a costos más accesibles han propiciado un aumento en el número de taxa estudiados en México; dichos trabajos se refieren a mejoramiento genético de cultivos y ganado (Lozoya *et al.*, 2010; Barrios *et al.*, 2011; Parra *et al.*, 2011), diversidad y flujo genético entre poblaciones silvestres (Lozano *et al.*, 2009; Peñaloza *et al.*, 2010; Wegier *et al.*, 2011; Canales *et al.*, 2012), dispersión de parásitos de importancia para la salud humana, animal y vegetal (Rosenthal, 2009; Jourdie *et al.*, 2010; Lefèvre *et al.*, 2011), nuevos registros de marcadores moleculares (Solórzano *et al.*, 2009; Canales *et al.*, 2010), biogeografía (McCormack *et al.*, 2008; Taylor *et al.*, 2011; Bryson *et al.*, 2011) y comportamiento (Reyes *et al.*, 2009; Canales *et al.*, 2012), entre otros.

Aplicaciones de los marcadores moleculares en el estudio de la vida silvestre

Tradicionalmente las investigaciones relativas a las interacciones entre organismos silvestres y su medio físico se basaban en datos morfológicos, fisiológicos y de comportamiento con los que podía construirse un perfil fenotípico que era usado para estimar la variabilidad genética de una población (Avisé, 2004; Freeland, 2005). Sin embargo, estos métodos tendían a sobreestimar la variación por la plasticidad fenotípica, que se refiere a la condición en la que un mismo genotipo origina diferentes fenotipos, debido a la influencia de factores ambientales (Freeland, 2005).

En la actualidad, el estudio de algunos aspectos sobre la vida silvestre tales como el comportamiento, parentesco o estructura poblacional involucran el uso de la información contenida en los ácidos nucleicos y proteínas de los individuos, que es factible analizar a través de marcadores moleculares, lo que hace posible obtener resultados más objetivos y confiables (Lowe *et al.*, 2004).

Existen dos tipos de marcadores moleculares con diversas aplicaciones (Cuadro 1), los codominantes que facilitan la identificación de *loci* homocigotos y heterocigotos; y los dominantes, que favorecen la generación simultánea de datos provenientes de múltiples *loci*. Gracias a los avances tecnológicos recientes, la mayor parte de los marcadores moleculares solo necesitan pequeñas cantidades de ADN para generar resultados, situación que en muchas ocasiones permite realizar muestreos no invasivos de los organismos (Taberlet *et al.*, 1999). El costo de los marcadores es variable; de acuerdo a las características de cada uno, a los reactivos que requieren y a las condiciones o tecnología necesaria para utilizarlos suelen ser muy baratos (+) o muy caros (++++) (Cuadro 1).

In the last decade, the increasing availability of molecular markers, the access to international databases (GenBank, EMBL), in addition to the growing supply of equipment and materials for genetic studies at more affordable costs, have led to an increase in the number of species studied in Mexico; they refer to genetic improvement of crop and livestock species (Lozoya *et al.*, 2010; Barrios *et al.*, 2011; Parra *et al.*, 2011), to diversity and gene flow among wild populations (Lozano *et al.*, 2009; Peñaloza *et al.*, 2010; Wegier *et al.*, 2011; Canales *et al.*, 2012), dispersal of important parasites to human, animal and plant health (Rosenthal, 2009; Jourdie *et al.*, 2010; Lefèvre *et al.*, 2011), new registrations of molecular markers (Solórzano *et al.*, 2009; Canales *et al.*, 2010), biogeography (McCormack *et al.*, 2008; Taylor *et al.*, 2011; Bryson *et al.*, 2011) and behavior (Reyes *et al.*, 2009; Canales *et al.*, 2012), among others.

Application of molecular markers in the study of wildlife

Traditionally, research on the interactions between wild organisms and their physical environment were based on morphological, physiological and behavioral data with which a phenotypic profile could be constructed that was used to estimate the genetic variability of a population (Avisé, 2004; Freeland, 2005). However, these methods tend to overestimate the variation from phenotypic plasticity, which refers to the condition in which the same genotype produces different phenotypes due to the influence of environmental factors (Freeland, 2005).

Currently, the study of some aspects of wildlife such as behavior, kinship or population structure involves the use of the information contained in proteins and nucleic acids individuals, which can be analyzed by molecular markers which allows more objective and reliable results (Lowe *et al.*, 2004).

There are two types of molecular markers with various applications (Table 1), the co-dominant allowing the identification of homozygous and heterozygous loci and the dominant, allowing simultaneous generation of data from multiple loci. Thanks to technological advances in recent decades, most of molecular markers need only small amounts of DNA to generate results, which often allows non-invasive sampling of organisms (Taberlet *et al.*, 1999). The cost of these markers is variable; according to the characteristics of each, and require reagents or conditions necessary to utilize technology can be very cheap (+) or expensive (++++) (Table 1).



Cuadro 1. Comparación de marcadores moleculares utilizados en investigación y manejo de la vida silvestre.

Tipo	Marcador	Costo	Aplicaciones
Codominante	Aloenzimas	+	Estimación de diversidad genética y estructura poblacional, hibridación, flujo genético y poliploidía. Desventaja: no detecta sustituciones sinónimas de nucleótidos, de lo que resulta una subestimación de niveles de variación.
	Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)	+++	Variabilidad genética y estructura poblacional, flujo genético, estudios de hibridación y poliploidía, filogenia y filogeografía. Desventaja: resultados poco reproducibles entre laboratorios.
	Secuenciación capilar (Sanger)	++++	Estimación de diversidad genética, tasas de migración y flujo de genes, estructura poblacional, sistemas de apareamiento, hibridación, de especial utilidad en filogenia y filogeografía. Desventaja: los costos, en primer lugar.
	Microsatélites (STRs)	++++	Ideal para estudios intrapoblacionales, parentesco, pasado reciente de las poblaciones (efecto fundador, cuello de botella), diversidad genética, estructura poblacional, migración. Desventaja: costos, no funcionan para filogenia.
Dominante	Amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD)	++	Similitudes genéticas entre individuos, generación de mapas genéticos. Desventaja: fragmentos amplificados redundantes.
	Polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP)	+++	Perfiles de crianza para reproducción en cautiverio, reproducción selectiva de especies comerciales, diversidad genética, estructura poblacional, flujo genético, filogenia. Desventaja: costos, requiere sondas radioactivas.

Fuente: *Avise, 2004; Lowe et al., 2004; Freeland, 2005; Selkoe y Toonen, 2006.*

Table 1. Comparison of molecular markers used in research and wildlife management.

Kind	Marker	Cost	Applications
Co - dominant	Alloenzymes	+	Estimation of the genetic diversity and population structure, hybridation, genetic flow and polyploidy. Disadvantage: it does not detect nucleotide synonym substitutions which result in an underestimation of variability levels.
	Restriction fragment length polymorphisms (RFLP)	+++	Genetic variability and population structure, genetic flow, hybridation studies, genetic polyploidy, phylogeny and phytogeography. Disadvantage: hardly replicable results at the laboratory.
	Capilar sequencing (Sanger)	++++	Estimation of genetic diversity, migration rates and gene flow, population structure, mating systems, hybridation, especially useful in phylogenetics and phytogeography. Disadvantage: mainly, costs.
	Microsatelites (STRs)	++++	Ideal for intra-population studies, kinship, recent past of the populations (foundation effect, bottle neck), genetic diversity, population structure, migration. Disadvantage: costs, it does not work for phylogenetics.
Dominant	Random amplification of polymorphic DNA (RAPD)	++	Genetic similitudes among individuals, generation of genetic maps. Disadvantage: amplified redundant fragments.
	Polymorphisms in the length of the amplified fragments (AFLP)	+++	Breeding profiles for captivity reproduction, selective reproduction of commercial species, genetic diversity, population structure, genetic flow, phylogenetics. Disadvantage: costs, it demands radioactive probes.

Source: *Avise, 2004; Lowe et al., 2004; Freeland, 2005; Selkoe and Toonen, 2006.*

Eguiarte *et al.* (2013) describen las ventajas y desventajas que ofrece el uso de estos marcadores. A diferencia de los basados en proteínas o en PCR, las plataformas de secuenciación masiva o *Next Generation Sequencing* (*next-gen*) con los que se cuenta en la actualidad (*Ion Torrent*, 454, *SOLiD*, *Illumina*, *PacBio*) hacen posible secuenciar secciones mucho más amplias de un genoma, e incluso genomas completos en periodos más cortos y a precios mucho más accesibles. La ventaja principal de esta tecnología es que no se requiere conocer el genoma de los organismos que se analicen, además de que la cantidad de información generada favorece aproximaciones mucho más detalladas que con el uso de marcadores convencionales (Eguiarte *et al.*, 2013; Escalante *et al.*, 2014), pues, en particular, estiman la estructura y el flujo genético, los tamaños efectivos de las poblaciones, los patrones de selección natural y la endogamia; además, ofrecen la posibilidad de hacer comparaciones de expresión genética relacionadas con factores ambientales o historias de vida. Escalante *et al.* (2014) explican de forma pormenorizada el funcionamiento técnico de esas plataformas y brindan información sobre las tasas de error, así como de la cantidad de datos que se puede generar con cada una; Glenn (2011) consigna los costos de estos últimos, en función de las diferentes técnicas de secuenciación usadas (*capilar Sanger y next-gen*).

Finalmente, hay métodos que utilizan células individuales y no marcadores moleculares para evaluar la integridad del ADN como un indicador de salud ambiental. Un ejemplo es el ensayo de electroforesis de microgeles o ensayo cometa, el cual es de utilidad en el estudio de estrés ecológico sobre los organismos que habitan sitios expuestos a químicos genotóxicos (González *et al.*, 2012).

La genómica en el estudio de la vida silvestre

Entre humanos y naturaleza no existe un beneficio mutuo debido a la influencia que las actividades antrópicas tienen sobre la transferencia de energía de un nivel trófico a otro y que impactan la biodiversidad, el flujo de carbono en los ecosistemas y la provisión de servicios ambientales (Haberlt *et al.*, 2007). Los estudios genómicos ayudan a comprender las relaciones entre organismos o genes con su medio; además, contribuyen al diseño de estrategias que aseguran la producción de alimentos y la conservación de la flora y la fauna (Atlas *et al.*, 2010; Bonilla, 2012; O'Neill *et al.*, 2012; Ambriz, 2012). A continuación se abordan algunas áreas en las que la genómica tiene aplicaciones encaminadas a la conservación, protección y manejo de poblaciones naturales y a la caracterización de organismos bioindicadores para la detección de patógenos y contaminantes de importancia tanto biológica, como comercial.

The advantages and disadvantages offered by the use of these markers can be found in Eguiarte *et al.* (2013). Unlike protein-based markers or PCR, mass sequencing platforms or *Next Generation Sequencing* (*next-gen*) at present (*Ion Torrent*, 454, *SOLiD*, *Illumina*, *PacBio*) allow sequencing long sections of a larger genome, and even whole genomes in shorter periods and at much more affordable prices. The main advantage of this technology is that it is not a prerequisite to know the genome of organisms under study, in addition to the amount of information generated allows much more detailed population approaches than by using conventional markers (Eguiarte *et al.*, 2013; Escalante *et al.*, 2014), specifically, structure and gene flow estimate, effective population sizes, patterns of natural selection and inbreeding, and offer the possibility of comparing gene expression related to environmental factors or life stories. Escalante *et al.* (2014) describe in detail the technical operation of these platforms, and provide information on error rates and the amount of data that can be generated with each one. Glenn (2011) makes a contribution about costs that refer to the amount of data that are generated with different sequencing techniques (*Sanger capillary sequencing and next-gen*).

Finally, there are methods that use single cells and not molecular markers for assessing the integrity of DNA as an indicator of environmental health. An example of this is the microgel electrophoresis assay and comet assay, which is useful in the study of ecological stress on organisms living in areas exposed to genotoxic chemicals (González *et al.*, 2012).

Genomics in the study of wildlife

Although mankind is part of ecosystems by itself, between humans and nature there is no relationship of mutual benefit due to the effect of human activities on the transfer of energy from one trophic level to another and that impact biodiversity, flow carbon in ecosystems and the provision of environmental services (Haberlt *et al.*, 2007). Genomic studies help to understand the relationships between organisms and/or genes with their environment, also they generate strategies to ensure food production and conservation of flora and fauna (Atlas *et al.*, 2010; Bonilla, 2012; O'Neill *et al.*, 2012; Ambriz, 2012). In the following paragraphs are referred some areas where genomics has applications aimed at contributing to the conservation, protection and management of natural populations and characterization of biomarkers agencies for the detection of pathogens and pollutants relevant to flora and fauna of biological and commercial importance are described.



Biopiratería y seguridad alimentaria

La recolección y transformación de material biológico contribuyen al bienestar social, así como al desarrollo y avance de la ciencia, en particular, la medicina. Sin embargo, cuando estas actividades se realizan de forma ilegal, los efectos son contraproducentes. La biopiratería es la obtención clandestina de materiales biológicos que atenta contra la soberanía de las naciones, impacta negativamente la economía de las comunidades rurales y propicia la desaparición de especies (Robinson, 2010). Este problema se agrava por la falta de entrenamiento del personal en las aduanas u otras instituciones encargadas de la regulación de comercio o protección de la vida silvestre en la identificación de especies. El arresto de una persona bajo sospecha de traficar con ellas se hace más difícil si se interceptan cargamentos en los que solo se almacenan partes de plantas o animales; por lo tanto, es necesario contar con métodos que faciliten la identificación de organismos o sus componentes.

Se ha propuesto la caracterización genómica de los organismos para ayudar en el control de su tráfico ilegal. Hasta ahora, el gen mitocondrial citocromo C oxidasa subunidad 1 (COI) es la mejor opción para identificar animales; la tasa de mutación del ADN mitocondrial (mtDNA) es menor a la de otros marcadores y se hereda exclusivamente por vía materna. Así, se espera que la secuencia de COI funcione como un detector de especies, en forma análoga al código de barras (Avisé, 2004; CBOL, 2012). A pesar de que ya existen algunos, aún faltan tecnologías que permitan la secuenciación *in situ* de muestras que deban reconocerse.

El gen COI no funciona como un marcador adecuado para plantas; sin embargo ya se han efectuado pruebas de dos genes de ADN cloroplástico (*matK* y *rbcl*) en dos regiones que prometen ser buenos marcadores para código de barras en vegetales (CBOL, 2012). No obstante, que parece ser un método conveniente a nivel de especie, se ha sugerido que debe ser regionalizado, ya que a escalas geográficas muy extensas la variabilidad intraespecífica de las secuencias puede aumentar en más de 1 % (Bergsten *et al.*, 2012), lo que afecta la precisión. En México ha sido utilizado para estudiar la diversidad de organismos como sanguijuelas (Ocegüera *et al.*, 2010), mariposas (Prado *et al.*, 2011), plantas medicinales (Schwarzbach y Aguilar, 2012), murciélagos (Hernández *et al.*, 2012) y avispas (Zaldívar *et al.*, 2010).

La genómica también ha contribuido al reforzamiento de las estrategias para la implementación de la seguridad alimentaria mundial. Los recursos disponibles para la investigación genética han acelerado el descubrimiento de nuevos métodos para mejorar e incrementar la producción de cultivos comerciales en todo el mundo (Varshney *et al.*, 2010).

Biopiracy and food security

Collection and transformation of biological material contributes to social wellbeing and to the development and advance of science and particularly, medicine. However, when these activities are illegally made, results are not good. Biopiracy is to obtain biological material in a clandestine way; it is against the sovereignty of nations, it has a negative impact on the economy of rural communities and favors the disappearance of species (Robinson, 2010). This problem becomes worse as the responsible personnel of customs of different institutions in charge of the regulation of commerce and protection of wild life, have no training in the identification of species. To put under arrest one suspect of trading such species is more difficult if loads or shipments are intercepted in which only pieces of plants or animals are found; it is necessary to count with methods that make it easier to identify living organisms or parts of them.

The genomic characterization of species to help control the illegal trade of flora and fauna has been proposed. Up to now, the best option to determine animals is the mitochondrial DNA cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene; the mitochondrial DNA mutation rate is lower than that of other markers and is exclusively inherited by the mother. Thus, it is expected that the COI sequence works as a species detector, in an analogous way to the barcode that is used for products (Avisé, 2004; CBOL, 2012); even though there are some that are used in many organisms, there are still missing some sequential *in situ* technologies of samples that must be acknowledged.

The COI gene does not work as a right marker for plants; however, tests have been made in two regions of a chloroplastic DNA gene (*matK* and *rbcl*) that seem to be good markers for barcoding in plants (CBOL, 2012). In spite of seeming to be a promising for the species, it has been suggested that barcodes must be regionalized since very broad intraspecific geographic scales of the sequences may increase in more than 1 % (Bergsten *et al.*, 2012), which affects precision. In Mexico it has been used to study the diversity of organisms as leeches (Ocegüera *et al.*, 2010), butterflies (Prado *et al.*, 2011), medicinal plants (Schwarzbach and Aguilar, 2012), bats (Hernández *et al.*, 2012) and wasps (Zaldívar *et al.*, 2010).

Genomics, too, has helped in reinforcing the strategies for implementing food security worldwide. The available resources for genetic research have allowed to accelerate the discovery of new methods to improve and increase the production of commercial crops around the world (Varshney *et al.*, 2010).

It has recently been found in Mexico that the genetic diversity of native races of maize is higher than what was thought. *Teocintle*, for example, is a reservoir that has been used since a very long time ago to improve crops and create new varieties. Therefore, it is assumed that the introduction of transgenic maize

Recientemente en México se ha determinado que la diversidad genética de razas nativas de maíz es más alta de lo que se creía. El teocintle, por ejemplo, es un reservorio que se ha usado desde tiempo atrás para mejorar los cultivos y crear nuevas variedades. Por lo tanto, se asume que la introducción de maíz transgénico no es necesaria, y existe preocupación por la posible pérdida de la variabilidad genética de estas razas; la probabilidad de transferencia de genes desde plantas transgénicas a las variedades nativas, además de los posibles daños ecológicos y el riesgo que ello implica para la producción de alimentos (Acevedo *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2013).

Una alternativa para asegurar la preservación de la diversidad genética de los cultivos nativos es la fundación de bancos de germoplasma. Con la creación del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), cuyos objetivos consisten en ser la fuente de germoplasma para el mejoramiento genético de cultivos, fortalecer la seguridad y la autosuficiencia alimentaria de México, y preservar la identidad genética de las especies nativas (Sagarpa, 2010, 2012) se han cimentado las bases para la conservación de los recursos agroalimentarios y de importancia biológica. Este es un hecho de suma importancia, si se toma en cuenta que México es el centro de origen de varias especies comestibles cultivadas como maíz, frijol, aguacate y jitomate (Perales y Aguirre, 2008).

Monitoreo de contaminación y patógenos

Los efectos tóxicos de los contaminantes sobre la estructura de las poblaciones pueden ser estudiados bajo la perspectiva de la genómica. Por ejemplo, la minería es considerada una de las actividades que genera más problemas de este tipo debido a la disposición incorrecta de los desechos, lo que parece ser un factor detonante de estrés ecológico en mamíferos. Se ha demostrado que la acción del plomo y el arsénico inciden de forma negativa sobre la distribución, flujo y diversidad genética en roedores (Mussali *et al.*, 2012).

La acumulación de residuos tóxicos en el suelo y el subsuelo es un problema recurrente para organismos detritófagos y de hábitos subterráneos; lo anterior quedó de manifiesto con los resultados de un ensayo cometa en lombrices de tierra recolectadas en la zona industrial adyacente al cauce del río Coatzacoalcos (Espinosa *et al.*, 2010), los cuales revelaron daño a los micronúcleos de sus células, indicativo de deterioro estructural del ADN. Estos trabajos evidencian cómo ciertas características de las poblaciones, o de sus individuos, se utilizan para cuantificar los efectos de los factores ambientales sobre la fauna terrestre, y los cambios en conductas, patrones demográficos y tamaños poblacionales que originan.

is not necessary here and there is concern for the possible loss of genetic variability of these races; the gene transference from transgenic plants to native varieties, as well as the possible ecologic damages and the risk that this implies for food security (Acevedo *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2013).

A strategy to make sure that the genetic diversity of native crops is preserved is the creation of germ plasm Banks. In this country, the foundations of the conservation of food and agriculture resources and of those of economic importance have been established by the creation of the *Centro Nacional de Recursos Genéticos* (CNRG) (Genetic Resources National Center) of INIFAP, which has as its main goal, to become the germ plasm source for the improvement of crops, to reinforce Mexico's food security and self-sufficiency and to keep the genetic identity of native species (Sagarpa, 2010, 2012). This is a very important fact if it taken into account that this country is the origin of several edible species such as maize, beans, avocado and tomato, for example (Perales and Aguirre, 2008).

Monitoring of pollution and pathogens

The toxic effects that pollutants have upon the structure of populations may be studied under the genomic perspective. For example, mining is considered one of the most pollutant activities in Mexico, from the incorrect elimination of wastes, which seems a condition that explodes the ecologic stress in mammals. It has been proved that lead and arsenic pollution may damage, considerably, the genetic distribution, flow and diversity in rodents (Mussali *et al.*, 2012).

The accumulation of toxic wastes in the soil and subsoil is a recurrent problem for detritophagous and underground organisms. This became evident through a comet assay with ground worms taken from the industrial zone nearby the Coatzacoalco river basin (Espinosa *et al.*, 2010), which showed damage in the micronuclei of their cells, which is an indication of DNA structural deterioration. These works demonstrate how some characteristics of the populations or of their individuals, are used to quantify the effects of environmental stressers upon terrestrial fauna and the changes in behaviors, demographic patterns and population sizes they provoke.

The molecular description of bacterial communities of aquatic systems linked to affected sites from mining or industrial activities has brought very valuable information for the identification of biomonitoring organisms (Harwood *et al.*, 2009; Mondragón *et al.*, 2011; Paul *et al.*, 2013). At present, the genetic characterization and the metabolic routes of bacterial species with the ability to reduce or oxidize some metals and other pollutants, is one of the main goals in the biotechnological research in Mexico.

La descripción molecular de comunidades bacterianas de sistemas acuáticos asociados a sitios impactados por actividades mineras o industriales ha proporcionado información muy valiosa para la identificación de organismos biomonitores (Harwood *et al.*, 2009; Mondragón *et al.*, 2011; Paul *et al.*, 2013). La caracterización genética y de las rutas metabólicas de especies bacterianas capaces de reducir u oxidar ciertos metales y otros contaminantes es uno de los objetivos primordiales de la investigación biotecnológica en México.

Conservación y manejo de especies

En la actualidad muchos países fundamentan sus decisiones de conservación y manejo de especies en estudios genéticos; toman en cuenta su historia evolutiva, así como la estructura y las tasas de flujo genético entre poblaciones. Cuando se trabajan especies con historia divergente es recomendable que los esfuerzos orientados en este sentido consideren la trayectoria de cada población a fin de mantener su identidad genética.

Las estimaciones de ese tipo son útiles para lograr un control efectivo, ya que indican los patrones de dispersión tanto en flora como en fauna, información vital para preservar la diversidad de genes. Así, las recomendaciones de manejo para seis grupos de nutrias (*Lontra longicaudis* Olfers, 1818) en los sistemas fluviales de Chiapas se basaron en la baja diferenciación genética y altos niveles de dispersión de los grupos estudiados y se les consideró como una sola población (Ortega *et al.*, 2012).

Una de las prácticas de manejo que involucra a poblaciones naturales es la traslocación de individuos entre áreas, que debe realizarse correctamente para no inducir endogamia. En la zona costera de Yucatán y Belice existían sospechas de hibridación entre el cocodrilo de Morelet (*Crocodylus moreletii* Duméril & Bibron, 1851) y el cocodrilo americano (*C. acutus* Cuvier, 1807); mediante el uso de STRs, González *et al.* (2012) no registraron evidencia de introgresión en los haplotipos de las dos especies, pero sí bajos niveles de diversidad genética, y señalaron que habría de cuidarse a *C. moreletii* para no arriesgar la prevalencia de su identidad genética.

Los métodos moleculares son útiles en el monitoreo de presencia y dispersión de patógenos, lo que es de especial relevancia en el sector productivo alimentario. Por ejemplo, la detección del virus del síndrome de manchas blancas (WSSV) en granjas camaroneras de Guasave, Sinaloa evitó pérdidas económicas importantes (Vázquez *et al.*, 2010). La investigación se realizó con protocolos basados en PCR con muestras provenientes de las branquias y tubo digestivo de ostión (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793). Los mismos métodos se aplican para evaluar la presencia y dispersión de parásitos hemosporidios de aves en zonas semiáridas de México, lo que puede ayudar a detectar amenazas para la industria avícola.

Species conservation and management

Many countries at present base their species conservation and management in genetic studies. Such decisions must take into account the evolutionary history of them, as well as the structure and genetic flow rates among populations. When species with divergent history are analyzed, it is advisable that the efforts oriented in this way consider the trail of each population in order to keep the genetic identity of each one.

This kind of estimations is useful too, to accomplish an effective control, since they reveal the dispersal patterns of flora and fauna. This information is crucial to preserve genetic diversity. For example, the recommendations to manage six groups of otters (*Lontra longicaudis* Olfers, 1818) in the river systems of Chiapas state were based upon the low genetic differentiation and the high dispersion levels of the studied groups, and they were considered as one single population (Ortega *et al.*, 2012).

One of the handling practices of natural populations is translocation of individuals between areas. However, if it is not done correctly, it may induce endogamy. In the coast of Yucatán and Belize hybridization suspicions arose between Morelet crocodile (*Crocodylus moreletii* Duméril & Bibron, 1851) and the American crocodile (*C. acutus* Cuvier, 1807). Through the use of STRs, González *et al.* (2012) did not find evidence of introgresion in the haplotypes of both species, but they did find low levels of genetic diversity and pointed out that a bad management of *C. moreletii* could threaten the prevalence of the genetic identity in the population.

Molecular methods are also useful in monitoring the presence and dispersal of pathogens, which is especially relevant in the food productive sector. For example, the detection of the virus of the white spots syndrome (WSSV) in shrimp farms of Guasave, Sinaloa state, avoided important economic losses (Vázquez *et al.*, 2010). This was made with protocols based upon PCR with samples coming from the gills and digestive tube of oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793). These same methods are applied to assess hemosporidiosis parasites in semiarid zones of Mexico, which might help to detect threatens for the bird industry.



Las estrategias de manejo para especies longevas de distribución restringida también es factible desarrollarlas a partir de estudios genéticos. Se ha sugerido para algunas especies vegetales de este tipo, que, mientras haya adultos reproductivos, la recolección de semillas tiene un impacto mínimo en la diversidad genética. Un ejemplo es el exceso de heterocigocidad en poblaciones de *Dioon caputoi* De Luca, Sabato & Vázquez Torres, una cícada severamente amenazada del centro de México (Cabrera et al., 2008). Se ha recomendado evitar la extracción no controlada de ejemplares adultos y llevar a cabo su propagación por medio de semillas.

Los estudios de genética poblacional son aplicables a especies de interés comercial, como *Agave cupreata* Trel. & Berger y *A. potatorum* Zucc., ambas importantes en la industria mezcalera del sur de México. Aguirre y Eguiarte (2013) demostraron que no existe erosión genética aparente en los grupos analizados de los dos taxa, por lo que se recomendó la reproducción por medio de semillas y no de micropropagación.

Ciencias forenses y vida silvestre

Se ha estimado que el tráfico ilegal de especies vivas o de alguna de sus partes produce alrededor de US\$15 mil a 50 mil millones anuales en los Estados Unidos de América (Wallace y Ross, 2012). En México no existen cifras oficiales derivadas de estas actividades, pero unos especialistas consideran que las ganancias son comparables con las del tráfico ilegal de drogas (Alvarado, 2012). Los métodos generales de la genómica aplicados en investigación forense pueden ser extendidos y ajustados para recabar y examinar evidencia de crímenes contra la vida silvestre. A través de la investigación científica y los recorridos de campo, el Departamento de Pesca y Servicios de la Vida Silvestre de los Estados Unidos de América (FWS) colabora para condenar sospechosos de caza fortuita (Wallace y Ross, 2012).

A la fecha, los agentes encargados de otorgar protección al ambiente en México realizan funciones de verificación aleatoria del cumplimiento de la normatividad y fungen solamente como asesores técnicos ante las autoridades ministeriales en los casos en proceso (Calvillo, 2010), lo que limita la aplicación de la justicia sobre crímenes cometidos contra la biodiversidad. Sin embargo, ya se han hecho propuestas para implementar medidas que emulen los procedimientos del FWS, no solo en la capacitación de los agentes de campo, sino en el empleo de peritos especializados en la aplicación de técnicas moleculares y forenses para el análisis de evidencia en delitos ambientales. La genética forense también es útil en el estudio de las relaciones ecológicas entre organismos.

Las técnicas basadas en PCR han sido utilizadas para la identificación de especies de depredadores y sus presas mediante rastros indirectos (excretas, contenidos estomacales, pelo),

The management strategies of long-lasting species of restricted distribution also can develop from genetic studies. It has been suggested that for some vegetation species of this sort, while there exist reproductive adults, the collection of seeds has a minimal impact in the genetic diversity. An example is the excessive heterocycocity in *Dioon caputoi* De Luca, Sabato & Vázquez Torres populations, a severely threatened cycad of Central Mexico (Cabrera et al., 2008). It has been advised to avoid the non- controlled extraction of adult individuals and to carry out propagation by seeds in order to stop the genetic erosion of this species.

The genetic population studies have great application for commercial species, as it happens with *Agave cupreata* Trel. & Berger and *A. potatorum* Zucc., which are very important in the *mezcal* industry of Southern Mexico. Aguirre and Eguiarte (2013) proved that there is no apparent genetic erosion in the analyzed groups of both species, and thus it was advised that reproduction is made by seed and not by micro-propagation.

Forensic sciences and wildlife

It has been estimated that the illegal trade of live species or parts produces around US\$15-50 mil million a year in the United States of America (Wallace and Ross, 2012). There are no official ciphers in Mexico about the annual amount from these activities, but some specialists believe that profits are comparable with those of the underground drug trade (Alvarado, 2012). The general methods of genomics applied to forensic research may be extended and fitted to collect and examine evidence of crimes against wildlife. Through scientific research and field reviews, the US Fish and Wildlife Service (FWS) helps to arrest people suspected of fortuitous hunting (Wallace and Ross, 2012).

Nowadays, the agents in charge to protect the environment in Mexico, they carry out verification activities at random of regulations and work only as technical advisors on the face of the ministry authorities (Calvillo, 2010), which limits the application of justice over crimes against biodiversity. However, proposals have already been made to put into practice measures that emulate the FWS procedures, not only in the training of field agents, but in the employment of experts in the application of molecular and forensic techniques for the analysis of evidence in case of environmental felonies. Forensic genetics is useful, as well, in the study of the ecological relations among organisms.



lo que facilita abordar especies elusivas o de gran tamaño como los pumas (*Puma concolor* Linnaeus, 1771), jaguares (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) o coyotes (*Canis latrans* Say, 1823). En la Huasteca de San Luis Potosí se incorporaron estos métodos para examinar muestras fecales para identificar dos taxones de felinos y sus principales presas. Los investigadores determinaron con éxito alrededor de 50 % de las muestras recolectadas para asignarlas a *P. concolor* (12 presas y a *P. onca* (9 presas) (Rueda, 2010).

Se ha descubierto que es posible partir de fragmentos de ADN contenidos en el intestino de moscas carnívoras para calcular la riqueza de especies en sitios de difícil acceso e incluso se ha podido detectar la presencia de mamíferos considerados raros mediante esta metodología (Yong, 2013).

La metagenómica en la aproximación a la vida silvestre está proporcionando luz sobre los procesos ambientales que influyen en el establecimiento y diversificación de diferentes tapetes microbianos o *biofilms* en lugares con características biológicas muy particulares como son los embalses de Cuatro Ciénegas en Coahuila, lo que da a conocer la historia evolutiva de ese grupo de organismos, y contribuye a comprender los mecanismos del desarrollo de la vida en el planeta (Bonilla *et al.*, 2012).

Conclusiones

Las ciencias genómicas ofrecen una amplia gama de opciones para el estudio, manejo y conservación de la flora y la fauna silvestres. Los resultados de los trabajos expuestos hacen evidente que la inclusión de información generada a través del uso de marcadores moleculares podría mejorar los programas de manejo de especies de importancia comercial y en cautiverio, como es el caso de la repatriación de animales decomisados hacia sus lugares de origen.

Con base en los análisis filogenéticos, de parentesco, de variabilidad y similitud genética se podría lograr una mayor certidumbre a fin de evitar la erosión genética, la endogamia y la exogamia en poblaciones naturales.

El diseño de estrategias para la vida silvestre debe apoyarse en información generada con técnicas moleculares que ayuden a comprender a detalle las relaciones filogenéticas entre grupos de organismos o de especies para preservar la variabilidad y la identidad genética de las poblaciones y de los taxa, en particular de aquellas que están bajo algún tipo de amenaza, las nativas y las de alto valor comercial y alimenticio.

Como centro de origen de muchas especies cultivables, en México se debe preservar íntegramente el reservorio genético de estas y de las naturales, tanto de plantas como de animales que habitan en el territorio nacional. Las ciencias genómicas ofrecen la oportunidad de generar tal conocimiento.

PCR-based techniques have been used to identify species of predators and their prey through indirect traces (feces, stomach contents, hair), which facilitates addressing elusive species or large as pumas (*Puma concolor* Linnaeus, 1771), jaguars (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) or coyotes (*Canis latrans* Say, 1823). In the Huasteca of San Luis Potosí these methods were incorporated to examine fecal samples in order to determine two species of felines and their main prey. The researchers successfully determined about 50 % of the samples collected for assignment to *P. onca* and *P. concolor* and 12 and 9 preys, respectively, for each species (Rueda, 2010).

It has been found possible from DNA fragments contained in the gut of carnivorous flies to calculate the species richness at sites difficult to access and it has even been feasible to detect the presence of rare mammals by this methodology (Yong, 2013).

The approach of metagenomics to wildlife is shedding light on environmental processes that influence the development and diversification of different microbial mats or biofilms in places with very specific biological characteristics such as reservoirs of Cuatro Ciénegas in Coahuila, which reveals, not only the evolutionary history of this group of organisms, but also helps to understand the mechanisms of the development of life on the planet (Bonilla *et al.*, 2012).

Conclusions

Genomic sciences offer a wide range of options for the study, management and conservation of wildlife. The results of the exhibited works make clear that the inclusion of information generated through the use of molecular markers in the plans for wildlife could improve programs for species in captivity and commercially important species, such as the return of confiscated animals to their original populations.

Through phylogenetic analysis of kinship, genetic variability and similarity, the management plans could achieve greater certainty to avoid genetic erosion, inbreeding and outbreeding in natural populations.

Design management strategies of wild populations must rely on information generated through molecular techniques to help understand in detail the phylogenetic relationships between groups of organisms or between groups of species to preserve variability and the genetic identity of populations and species, particularly those under some kind of threat, native and those which are of high commercial and nutritional value.

As a center of origin of many crop species, in Mexico the gene pool of these species must fully preserve and the natural plants and animals that inhabit the territory. Genomic sciences provide the opportunity to generate such knowledge. In legal terms, the methods

En materia legal, los métodos relacionados a las mismas son herramientas de enorme potencial para la aplicación de justicia, regulación y protección de la soberanía de México sobre sus recursos naturales.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución por autor

Julio César Canales-Delgado: revisión sobre el tema, investigación bibliográfica y elaboración del manuscrito; Leonardo Chapa Vargas, Mauricio Cotera Correa y Laura Magdalena Scott-Morales: revisión del manuscrito y aportaciones para su enriquecimiento.

Referencias

- Acevedo, F., E. Huerta, C. Burgeff, P. Koleff and J. Sarukhán. 2011. Is transgenic maize what Mexico really needs? *Nature Biotechnology* 29: 23-24.
- Aguirre D., X. and L. Eguiarte. 2013. Genetic diversity, conservation and sustainable use of wild *Agave cupreata* and *Agave potatorum* extracted for mezcal production in Mexico. *Journal of Arid Environments* 90: 36-44.
- Alvarado M., I. 2012. Delincuencia organizada ambiental en México, una nueva manifestación criminal del tráfico de especies. *Revista Criminalidad* 54(1): 283-311.
- Ambriz, M. P. 2012. Secuenciación y análisis del genoma mitocondrial de subespecies de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*). Tesis de Maestría. CBG-IPN. Tamaulipas, México. 54 p.
- Atlas, R., C. Rubin, S. Maloy, P. Daszak, R. Colwell and B. Hyde. 2010. One Health—Attaining optimal health for people, animals, and the environment. *Microbe* 5 (9): 383-389.
- Avise, J. C. 2004. Molecular markers, natural history and evolution. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA, USA, pp. 55-98.
- Barrios G., E., C. López, J. Kohashi, J. Acosta, J. Gallegos, S. Miranda y N. Mayek. 2011. Avances en el mejoramiento genético del frijol en México por tolerancia a temperatura alta y a sequía. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34(4): 247-255.
- Bergsten, J., D. T. Bilton, T. Fujisawa, M. Elliott, M. T. Monaghan, M. Balke, L. Hendrich, J. Geijer, J. Herrmann, G. N. Foster, I. Ribera, A. N. Nilsson, T. G. Barraclough and A. P. Vogler. 2012. The effect of geographical scale of sampling on ADN barcoding. *Systematic Biology* 61(5): 851-869.
- Bolger D. T., A. C. Alberts and M. E. Soulé. 1991. Occurrence patterns of bird species in habitat fragments: sampling, extinction, and nested species subsets. *The American Naturalist* 137 (2): 155-166.
- Bonilla R., G., M. Peimbert, L. D. Alcaraz, I. Hernández, L. E. Eguiarte, G. Olmedo Á. and V. Souza. 2012. Comparative metagenomics of two microbial mats at *Cuatro Ciénegas* Basin II: community structure and composition in oligotrophic environments. *Astrobiology* 12: 659-673.
- Bryson Jr., R. W., R. W. Murphy, A. Lathrop and D. Lazzano V. 2011. Evolutionary drivers of phylogeographical diversity in the highlands of Mexico: a case study of the *Crotalus triseriatus* species group of montane rattlesnakes. *Journal of Biogeography* 38 (4): 697-710.
- Cabrera T., D., J. González A. and A. P. Vovides. 2008. Heterozygote excess in ancient populations of the critically endangered *Dioon caputoi* (Zamiaceae, Cycadales) from central Mexico. *Botanical Journal of the Linnean Society* 158: 436-447.
- Calvillo D., G. 2010. La investigación criminal forense en apoyo al manejo sustentable de la biodiversidad. *Derecho Ambiental y Ecología* 6(35): 43-51.
- Canales D., J., L. Scott M. and J. Korb. 2012. The influence of habitat fragmentation on genetic diversity of a rare bird species that commonly faces environmental fluctuations. *Journal of Avian Biology* 43(2): 168-176.

related to them are tools with enormous potential for the application of justice, regulation and protection of Mexico's sovereignty over its natural resources.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Contribution by author

Julio César Canales-Delgado: review of the topic, bibliographic research and writing of the manuscript; Leonardo Chapa Vargas, Mauricio Cotera Correa and Laura Magdalena Scott-Morales: review of the manuscript and contributions to improve it.

End of the English version

- Canales D., J., L. Scott M., O. Niehuis and J. Korb. 2010. Isolation and characterization of nine microsatellite loci in the endangered Worthen's Sparrow (*Spizella wortheni*). *Conservation Genetics Resources* DOI: 10.1007/s12686-010-9203-8.
- Coello G., A. Escalante and J. Soberón. 1993. Lack of genetic variation in *Lacandonia schismatica* (Lacandoniaceae: Triuridales) in its only known locality. *Annals of Missouri Botanical Garden* 80: 898-901.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio). 2000. Estrategia nacional sobre biodiversidad de México. Semarnat. México, D. F., México. 194 p.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio). 2006. Capital natural y bienestar social. Semarnat. México, D. F., México. 32 p.
- Consortium for Barcode of Life (CBOL). 2012. <http://www.barcodeoflife.org> (2 de octubre de 2014).
- Eguiarte L., E., J. A. Aguirre L., L. Jardón B., E. Aguirre P. y V. Souza. 2013. Genómica de poblaciones: Nada en evolución va a tener sentido si no es a la luz de la genómica, y nada en genómica tendrá sentido si no es a la luz de la evolución. *Revista Especializada de Ciencias Químico-Biológicas* 16 (1): 42-56.
- Escalante A. E., E. Jardón B., S. Ramírez B. and L. E. Eguiarte. 2014. The study of biodiversity in the era of massive sequencing. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: 1249-1264. DOI: 10.7550/rmb.43498.
- Espinosa R., G., C. A. Ilizaliturri, D. González M., R. Costilla, F. Díaz B., M. C. Cuevas, M. A. Martínez and J. Mejía S. 2010. ADN damage in earthworms (*Eisenia* spp.) as an indicator of environmental stress in the industrial zone of *Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico*. *Journal of Environment Science and Health, Part A* 45-1: 49-55.
- Freeland, J. R. 2005. Molecular ecology. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, West Sussex, UK. 388 p.
- Glenn, T. 2011. Field guide to next generation dna sequencers. *Molecular Ecology Resources* DOI: 10.1111/j.1755-0998.2011.0324.x.
- González M., D., G. Espinosa R., C. Ilizaliturri H., S. J. Mejía, Y. Jasso P. y F. Díaz B. 2012. Ensayo cometa en fauna terrestre. In: Cuevas D., M., G. Espinosa R., C. Ilizaliturri H. y C. A. Mendoza (eds.). Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos contaminados por hidrocarburos. Semarnat-INE. México, D.F., México. pp. 107-125.
- González T., R., D. Rodríguez, A. González R., M. R. J. Forstner, L. D. Densmore III and V. H. Reynoso. 2012. Testing for hybridization and assessing genetic diversity in Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) populations from central Veracruz. *Conservation Genetics* 13: 1677-1683.
- Haberlt, H., K. H. Erb, F. Krausmann, V. Gaube, A. Bondeau, C. Plutzer, S. Gingrich, W. Lucht and M. Fisher K. 2007. Quantifying and mapping the human appropriation of net primary production in earth's terrestrial ecosystems. *Proceedings of the National Academy of the United States of America* 104 (31): 12942-12947.

- Harwood, V. J., M. Brownell, S. Wang, J. Lepo, R. D. Ellender, A. Ajidahun and C. Flood. 2009. Validation and field testing of library-independent microbial source tracking methods in the Gulf of Mexico. *Water Research* 43(19): 4812-4819.
- Hernández D., A., J. A. Vargas, N. Martínez M., B. K. Lim, M. D. Engstrom and J. Ortega. 2012. ADN barcoding and genetic diversity of phyllostomid bats from the Yucatan Peninsula with comparisons to Central America. *Molecular Ecology Resources* 12: 590-597.
- Johannesson, K. and C. André. 2006. Life on the margin: genetic isolation and diversity loss in a peripheral marine ecosystem, the Baltic Sea. *Molecular Ecology* 5(8): 2013-2029.
- Jourdie, V., N. Álvarez, J. Molina O., T. Williams, D. Bergvinson, B. Benrey, T. C. J. Turlings and P. Franck. 2010. Population genetic structure of two primary parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera), *Chelonus insularis* and *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera): to what extent is the host plant important? *Molecular Ecology* 19 (10): 2168-2179.
- Lefèvre T., A. J. Williams and J. C. de Roode. 2011. Genetic variation in resistance, but not tolerance, to a protozoan parasite in the monarch butterfly. *Proceedings of Biological Science* 278 (1706): 751-759.
- Llorente B., J. y S. Ocegueda. 2008. Estado del conocimiento de la biota. In: Capital natural de México. Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, D. F., México, pp. 283-322.
- Lowe, A., S. Harris and P. Ashton. 2004. Ecological genetics. Design, analysis and application. Blackwell Publishing Science. New York, NY, USA, pp. 36-44.
- Lozano F., S., I. Fernández S., M. L. Muñoz, J. García R., K. E. Olson, B. J. Beaty and W. C. Black N. 2009. The Neovolcanic axis is a barrier to gene flow among *Aedes aegypti* populations in Mexico that differ in vector competence for dengue 2 virus. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 3(6): e468.
- Lozoya S., H., C. R. Belmar D., J. Bradeen y J. Helgeson. 2010. Caracterización de poblaciones de *Phytophthora infestans* (Mont de Bary) obtenidas de *Solanum* transgénicas y de híbridos somáticos resistentes. *Interiencia* 35(10): 784-788.
- McCormack, J. E., A. T. Peterson, E. Bonaccorso and T. B. Smith. 2008. Speciation in the highlands of Mexico: genetic and phenotypic divergence in the Mexican jay (*Aphelocoma ultramarina*). *Molecular Ecology* 17 (10): 2505-2521.
- Mondragón V., A., D. F. Llamas P., G. E. González G., A. R. Márquez G., R. Padilla N., M. de Jesús Durán A. and B. Franco. 2011. Identification of *Enterococcus faecalis* bacteria resistant to heavy metals and antibiotics in surface waters of the Mololoa River in Tepic, Nayarit, Mexico. *Environmental Monitoring Assessment* 183(1-4): 329-340.
- Mussali G., P., E. Tovar S., M. Valverde, L. Valencia C. and E. Rojas. 2012. Evidence of population genetic effects in *Peromyscus melanophrys* chronically exposed to mine tailings in Morelos, Mexico. *Environmental Science Pollution Research* DOI: 10.1007/s11356-012-1263-8.
- Myers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. da Fonseca and J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Ocegueda F., A., V. León R. and M. E. Siddall. 2010. DAN barcoding reveals Mexican diversity within the freshwater leech genus *Helobdella* (Annelida: Glossiphoniidae). *Mitochondrial ADN* 21(1): 24-29.
- O'Neill, E. M., R. Schwartz, C. T. Bullock, J. S. Williams, H. B. Shaffer, X. Aguilar-Miguel, G. Parra-Olea and D. W. Weisrock. Parallele tagged amplicon sequencing reveals major lineages and phylogenetic structure in the North American tiger salamander (*Ambystoma tigrinum*) species complex. *Molecular Ecology* 22(1):111-129.
- Ortega J., E. Navarrete y J. E. Maldonado. 2012. El muestreo no invasivo de las nutrias neotropicales, una especie amenazada, revela altos niveles de dispersión en el sistema fluvial del Lacantún, en Chiapas, México. *Animal Biodiversity and Conservation* 35(1): 59-69.
- Parra B., G. M., A. M. Sifuentes R., X. F. de la Rosa y W. Arellano V. 2011. Avances y perspectivas de la biotecnología genómica aplicada a la ganadería en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14: 1025-1037.
- Paul, J. H., D. Hollander, P. Coble, K. L. Daly, S. Murasko, D. English and C. W. Kovach. 2013. Toxicity and mutagenicity of Gulf of Mexico waters during and after the deepwater horizon oil spill. *Environmental Science and Technology* 47(17): 9651-9659.
- Peñaloza R., J. M., A. González R., L. Mendoza C., H. Caron, A. Kremer and K. Oyama. 2010. Interspecific gene flow in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico. *Annals of Botany* 105 (3): 389-399.
- Perales, H. R y J. R. Aguirre. 2008. Biodiversidad humanizada. In: Soberón, J., G. Halffter y J. Llorente-Bousquets (comps.). Capital natural de México, Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, D. F., México, pp. 565-603.
- Pimm, S. L and P. Raven. 2000. Biodiversity: extinction by numbers. *Nature* 403: 843-845.
- Piñeiro D., A. Barahona, L. Eguarte, A. Rocha O. y R. Salas L. 2008a. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aspectos y perspectivas en México. In: Soberón, J., G. Halffter y J. Llorente-Bousquets (comps.). Capital natural de México, Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, D. F., México, pp. 415-435.
- Piñeiro D., D. 2008b. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. In: Soberón, J., G. Halffter y J. Llorente-Bousquets (comps.). Capital natural de México, Vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, D. F., México, pp. 437-494.
- Prado, B., R. C. Pozo, M. Valdez M. and P. D. N. Hebert. 2011. Beyond the colours: discovering hidden diversity in the Nymphalidae of the Yucatan Peninsula in Mexico through ADN Barcoding. *PLoS ONE* 6(11): e27776. doi:10.1371/journal.pone.0027776.
- Reyes, D., R. E. Alcalá, D. Arias and M. Osorio B. 2009. Genetic structuring at a fine scale in the Russet-Crowned motmot (*Momotus mexicanus*) in a tropical dry forest in central Mexico. *Western North American Naturalist* 69 (2): 171-174.
- Robinson, D. F. 2010. Confronting biopiracy: challenges cases and international debates. Earthscan Books, Ltd., London, UK. 189 p.
- Rosenthal, B. M. 2009. How has agriculture influenced the geography and genetics of animal parasites? *Trends in Parasitology* 25 (2): 67-70.
- Rueda Z., R. P. 2010. Determinación de la dieta de jaguar (*Panthera onca*) y puma (*Puma concolor*) en el municipio de Tamasopo, San Luis Potosí. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de Méx., México. 81 p.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Recursos Hidráulicos, Pesca y Alimentación (Sagarpa). 2010. <http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/Documents/SistNacRecGen.pdf> (9 de enero de 2014).
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Recursos Hidráulicos, Pesca y Alimentación (Sagarpa). 2012. <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/boletines2/paginas/2012B198> (9 d enero de 2014)
- Schwarzbach, A. and H. Aguilar. 2012. The use of ADN barcoding for identification of medicinal plant products: an example from plants used in the Southern Texas-Mexico border region. *BMC Complementary and Alternative Medicine (Suppl 1)*, p. 37. DOI: 10.1186/1472-6882-12-S1-P37.
- Selkoe K. A. and R. J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9: 615-629.
- Solórzano S., A. C., A. Cortés, P. Ibarra, P. Dávila and K. Oyama. 2009. Isolation, characterization and cross-amplification of polymorphic microsatellite loci in the threatened endemic *Mammillaria crucigera* (Cactaceae). *Molecular Ecology Resources* 9 (1): 156-158.
- Soulé M. E. and I. S. Mills. 1992. Conservation genetics and conservation biology: a troubled marriage. In: Sandlund, O. T., K. Hindar and A. H. D. Brown (eds.). Conservation of biodiversity for sustainable development. Scandinavian University Press, Oslo, Norway, pp. 55-69.
- Taberlet, P., L. P. Waits and G. Luikart. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 323-327.

- Taylor S. A., L. Maclagan, D. J. Anderson and V. L. Friesen. 2011. Could specialization to cold-water upwelling systems influence gene flow and population differentiation in marine organisms? A case study using the blue-footed booby, *Sula nebouxi*. *Journal of Biogeography* 38: 883-893.
- Varshney R. K., J. C. Glaszmann, H. Leung and J. M. Ribaut. 2010. More genomic resources for less-studied crops. *Trends in Biotechnology* 28(9): 452-460.
- Vázquez B., C. P. Álvarez R., C. Escobedo F., G. Anguiano V., M. Duran A., V. Serrano P. and C. M. Escobedo B. 2010. Detection of white spot syndrome virus (WSSV) in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Journal in Invertebrate Pathology* 104(3): 245-247.
- Wallace, J. R. and J. C. Ross. 2012. The application of forensic science to wildlife evidence. In: Huffman, J. E. and J. R. Wallace (eds). *Wildlife forensics: methods and applications*. Wiley-Blackwell, Ltd. London, UK. pp. 35-50.
- Wang, W., H. Xia, X. Yang, T. Xu, H. J. Si, X. X. Cai, F. Wang, J. Su, A. A. Snow and B. R. Lu. 2013. A novel 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase transgene for glyphosate resistance stimulates growth and fecundity in weedy rice (*Oryza sativa*) without herbicide. *New Phytologist*. DOI: 10.1111/nph.12428.
- Wegier A., A. Piñeyro N., J. Alarcón, A. Gálvez M., E. R. Álvarez B. and D. Piñeiro. 2011. Recent long-distance transgene flow into wild populations conforms to historical patterns of gene flow in cotton (*Gossypium hirsutum*) at its centre of origin. *Molecular Ecology* 20: 4182-4194.
- Yong, E. 2013. Flesh-eating flies map forest biodiversity. *Nature News*. Nature Publishing Group. DOI: 10.1038/nature.2013.12147.
- Zaldívar R., A., J. Martínez, F. Ceccarelli, V. de Jesús B., A. Rodríguez P., A. Reséndiz F. and M. Smith. 2010. ADN barcoding a highly diverse group of parasitoid wasps (Braconidae: Doryctinae) from a Mexican nature reserve. *Mitochondrial ADN* 21(1): 18-23.

