

**Centro de Investigación Científica y de
Educación Superior de Ensenada**



**ESTRUCTURA GENÉTICA DEL PEZ DORADO (*Coryphaena hippurus*)
EN DISTINTAS ESCALAS GEOGRÁFICAS DEL PACÍFICO
NORORIENTAL**

TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS

Mariana Bobadilla Jiménez

Ensenada, Baja California, México, Septiembre de 2007

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR DE
ENSENADA**



PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS

EN ECOLOGÍA MARINA

**ESTRUCTURA GENÉTICA DEL PEZ DORADO (*Coryphaena hippurus*) EN
DISTINTAS ESCALAS GEOGRÁFICAS DEL PACÍFICO NORORIENTAL**

TESIS

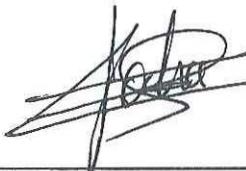
que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

Mariana Bobadilla Jiménez

Ensenada, Baja California, México, septiembre del 2007

TESIS DEFENDIDA POR
Mariana Bobadilla Jiménez
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ



Dr. Axayácatl Rocha Olivares
Director del Comité



Dr. Oscar Sosa Nishizaki
Miembro del Comité



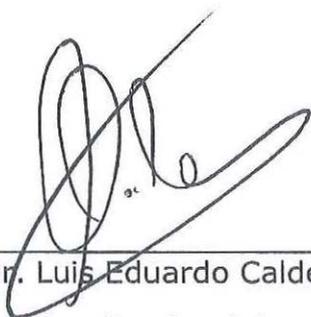
Dr. Saúl Álvarez Borrego
Miembro del Comité



Dr. Roberto Enriquez Andrade
Miembro del Comité



Dr. Miguel Ángel del Río Portilla
Miembro del Comité



Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera
*Coordinador del programa de
posgrado en Ecología Marina*



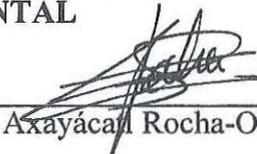
Dr. Edgar Gerardo Pavía López
Director de Estudios de Posgrado

13 de septiembre del 2007

RESUMEN de la tesis que presenta **Mariana Bobadilla Jiménez**, como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en ECOLOGÍA MARINA. Ensenada, Baja California. Septiembre 2007.

ESTRUCTURA GENÉTICA DEL DORADO (*Coryphaena hippurus*) A DISTINTAS ESCALAS GEOGRÁFICAS EN EL PACÍFICO NORORIENTAL

Resumen aprobado por:


Dr. Axayácan Rocha-Olivares

El pez dorado *Coryphaena hippurus*, especie reservada a la pesca deportiva en México, constituye un recurso estratégico y de alto valor agregado para quienes se asocian a esta industria. Desafortunadamente la falta de información no permite sustentar científicamente el estatus actual de manejo de la especie en el país. Los estudios de genética molecular han demostrado ser una herramienta eficaz para estudiar conectividad marina, inferir la variabilidad genética poblacional y delimitar subpoblaciones; lo cual es de gran importancia en la evaluación de recursos pesqueros, decisiones de manejo y conservación. El alto potencial de dispersión de especies pelágicas como atunes, picudos y dorados sugiere una homogeneidad genética a lo largo de su rango geográfico a distintas escalas espaciales. Sin embargo, la biología y abundancia estacional del dorado podría limitar el flujo genético a través de su rango geográfico y esto puede promover la formación de subpoblaciones discretas en distintas áreas geográficas. En este estudio analizamos la estructura genética de *C. hippurus* usando 412 organismos provenientes de actividades de pesca deportiva de Sonora, Sinaloa, Baja California Sur, Jalisco, Colima, Chiapas, Oaxaca y Hawai, con cinco marcadores microsatelitales (*Chi02*, *Chi023*, *Chi08*, *Chi8A* y *Chi037*). Los *loci* fueron altamente diversos al mostrar entre 12 y 33 alelos y heterocigosidades de 0.70 a 0.95. Los índices de fijación indican una heterogeneidad genética global significativa ($F_{ST} = 0.0036$, $P = 0.001$ y $R_{ST} = 0.00941$, $P = 0.026$). Los valores R_{ST} en comparaciones pareadas antes de Bonferroni señalan diferenciación genética entre localidades cercanas geográficamente. Algunas de estas comparaciones señalan que Sinaloa, Colima y Chiapas representaron las localidades más disímiles. La prueba nula de panmixia entre regiones geográficas no pudo ser rechazada al no encontrar ninguna variación entre ellas ($R_{CT} = 0.000023$, $P = 0.49$). El AMOVA para probar diferencia en escalas mayores de distancia revela que no existe dicho patrón de diferenciación por distancia geográfica ($R_{CT} = 0.00$, $P = 0.62252$) y refleja que las poblaciones del continente presentan estructura genética entre ellas a pesar de su cercanía geográfica ($R_{SC} = 0.0106$, $P = 0.02357$). Finalmente, el AMOVA para corroborar la diferenciación genética de Colima, Chiapas, Sinaloa y de (BCS, Sonora, Hawai, Oaxaca y Jalisco) indica 1.27% de variación entre grupos, corroborando la diferenciación genética significativa entre estos grupos ($R_{CT} = 0.013$, $P = 0.015$). Este estudio no es concluyente para proponer “stocks” de manejo, pero sí sugiere que las poblaciones del dorado no son homogéneas y por tanto no deben considerarse como una sola unidad de manejo.

Palabras clave: *Coryphaena hippurus*, genética poblacional, microsatélites.

ABSTRACT of the thesis presented by **Mariana Bobadilla Jiménez** as a partial requirement to obtain the **MASTER OF SCIENCE** degree in **MARINE ECOLOGY**. Ensenada, Baja California, Mexico. September 2007.

GENETIC STRUCTURE OF THE MAHI MAHI (*Coryphaena hippurus*) AT DIFFERENT GEOGRAPHICAL SCALES IN THE NORTHEASTERN PACIFIC

Abstract approved by:



 Dr. Axayácatl Rocha-Olivares

Mahi mahi, *Coryphaena hippurus*, is a species reserved exclusively for sport fishing in Mexico. It is a strategic resource and has a high added value for this industry. Unfortunately the lack of information about its population structure has not allowed making an informed decision to support a current management status in the country. The studies of molecular genetics have demonstrated to be an effective tool for studying marine connectivity, inferring population genetic variability, and defining subpopulations. This is of great importance in the evaluation of fishing resources, management and conservation. The high potential of dispersal of pelagic species, like tunas, dolphinfishes and billfishes suggests a genetic homogeneity along their geographic range at different geographical scales. However, the biology and seasonal abundance of Mahi mahi could limit gene flow throughout their range and thus may promote the formation of discrete subpopulations in different geographical areas. In this study we analyzed the genetic structure of *C. hippurus*, using 412 organisms sampled from the sport fishing activities of Sonora, Sinaloa, Baja California Sur, Jalisco, Colima, Chiapas, Oaxaca and Hawaii, with five microsatellite loci (*Chi02*, *Chi023*, *Chi08*, *Chi8A* y *Chi037*). The loci were highly diverse having between 12 and 33 alleles and heterocigousities from 0.70 to 0.95. Fixation indexes indicated significant global genetic heterogeneity ($F_{ST} = 0.0036$, $P = 0.001$ and $R_{ST} = 0.00941$, $P = 0.026$). Pairwise R_{ST} values suggest genetic differentiation between geographically close localities before Bonferroni corrections. Some of these comparisons indicate that Sinaloa, Colima and Chiapas were the most differentiated localities. The null hypothesis of panmixia among geographical regions could not be rejected ($R_{CT} = 0.000023$, $P = 0.49$). An AMOVA to test differences at the largest geographical scale revealed that distance is not a factor determining the patterns of genetic differentiation among these localities ($R_{CT} = 0.00$, $P = 0.62252$). The same analysis indicates that continental populations are genetically structured in spite of their geographical proximity ($R_{SC} = 0.0106$, $P = 0.02357$). Finally, an AMOVA to corroborate the genetic differentiation among Colima, Chiapas, Sinaloa, and (BCS, Sound, Hawaii, Oaxaca and Jalisco) revealed that 1.27% of the molecular variance was attributed to the existence of these groups ($R_{CT} = 0.013$, $P = 0.015$), corroborating the significant genetic differentiation at a global scale. This study may not be conclusive to propose specific management units, but it indicates that Mahi mahi in the eastern Pacific does not represent a homogeneous population or management unit and should not be managed as such.

Keywords: *Coryphaena hippurus*, population genetics, microsatellites.

Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado.

Un esfuerzo total es una victoria completa.

Mahatma Gandhi

DEDICATORIA

A Dios

*Sin él, simplemente nada sería posible
Hebreos 10:35-36, 11:01*

*A mis padres
Silvia y Antonio*

*Por su infinito amor y cariño. Quisiera nunca haberme alejado de su lado, pero sé que vale la
espera y la distancia.*

Gracias por hacer de mí un ser humano sensible.

*A mis hermanas
Silvia Julieta, Karla y Marina*

*Aún recuerdo que mi único consuelo era saber que ustedes estaban, no tenía miedo, ni frío, ni
nada... siempre estarían a mi lado.*

*A mis sobrinos
Jonathan, Lwva, Daniela, Karen, Cristian, Michel y Monserrat*

Ellos son el verdadero motor de mis decisiones

*Al compañero perfecto
Oscar*

*Nunca importó el cansancio, bastaba saber que estábamos juntos.
Con tu ejemplo sé que todo es posible mientras se luce por alcanzarlo.
Tu rectitud, disciplina y entrega, es suficiente para saber que eres el hombre que he esperado.
Gracias por ser en mi vida algo más que un instante.
Te admiro y te amo mi amor.*

Al Dr. Axayácatl Rocha

*Asesor y amigo, más allá de la genética, por ser ejemplo de disciplina, constancia y dedicación.
Porque su labor en la formación de un recurso humano productivo, fue sentado sobre bases sólidas
de integridad y ética. Aún me falta mucho, pero ahora sé que la trayectoria y credibilidad de una
persona, son la llave para muchas puertas.*

Gracias por tratar de desarrollar en mí un sentido autocrítico.

Al Dr. Saúl Álvarez

*El conocimiento es un regalo invaluable y Saúl nunca escatimó en brindarme con cada encuentro
un gran viaje al pasado. Mariana, nunca busques reconocimientos, disfruta tu trabajo y vive cada
instante como si fuera el último. Cuando Dios tiene reservado algo para ti, ¡espera!, que hasta la
providencia mueve sus hilos.*

Muchas gracias por tener siempre el consejo oportuno.

Nancy

A mi querida amiga, mi pavona y señorita cometa, gracias porque siempre estuviste cuando más lo necesité.

Ismael

A mi negro precioso que siempre hizo lo ordinario confuso.

Al mejor equipo

*Nancy Ismael y Mariana
Porque nunca hubo reservas.*

Carina

Porque contribuiste en gran medida en el gusto que tengo por la genética y porque siempre tuviste la respuesta.

Gaby

Aunque de manera extraña e intermitente te presentas en mi vida, sé que eres mi amiga, gracias.

Erick

Le doy gracias al gran amigo por compartir nuestras historias, en este guión del libro de la vida.

A mi generación

*Por el sueño que empezamos juntos, en mi mente sólo queda grabado el equipo decibeles.
Gracias a cada uno que a su manera, me ayudó a crecer como persona.*

Por la gran familia que algún día fuimos

Laura Lucero, Erick Oñate, Nancy Saavedra, Ismael Guzmán, Mariana Bobadilla, Gabriela Valle, Yuriko Osiris, Claudia Rodríguez, Julio Hernández, Gemma Rivera, Melba de Jesús, Sandra Gallo y Pablo Ceyca.

A todos los compañeros de laboratorio Ecología Molecular que en algún momento compartimos este espacio

Iris Segura, Jorge Dávila, Ligeia del Toro, Melania López, Jonathan Sandoval, Yehudi, Mónica González, Juan Carlos Pérez, Julio Palleiro, Carina Gutiérrez, Nancy Saavedra, Ismael Guzmán, Yuriko Osiris, Tiago Pereira, Ruth Gingold, Jimena Rodríguez, Arely Martínez y Daniel Loya.

A la excelente labor de docencia de los profesores

Saúl Álvarez, Vicente Ferreira, Sharon Herzka, Oscar Sosa y Axayácatl Rocha.

AGRADECIMIENTOS

*“Nunca te conceden un deseo
sin concederte también la facultad de convertirlo en realidad”*

Richard Bach

A CONACYT, sinceramente agradezco la beca que me otorgaron, sin ella no hubiese sido posible lograr este sueño.

A CICESE, por brindarme educación de primer nivel y despertar en mi el interés por la ciencia. Por darme un estilo y una nueva concepción de la vida.

Al Fondo sectorial SAGARPA 2004-2006 por el financiamiento del proyecto Estructura, dinámica y ecología molecular de las poblaciones de pez dorado (*Coryphaena Spp.*) en el Pacífico Mexicano.

Al SWFSC-NOAA, en especial a Russell Vetter, Eric Lynn y Carol Kimbrell por su apoyo en el procesamiento de datos.

Del IPN, CICIMAR, UMAR y Federación de Pesca Deportiva, a Sofía Ortega, Píndaro Díaz, Rolando Cardeña, Pedro Sors por ayudar en la consecución de las muestras analizadas en este estudio.

A Sharon Herzka muchas gracias por ayudarme a poner orden en mis ideas.

A Raquel Muñiz por su apoyo en el aprendizaje de los programas que sirvieron para los análisis estadísticos.

A Luis Eduardo Calderón Aguilera por ser amigo y tener siempre la disposición para ayudarme.

A mi amigo y diccionario ambulante Horacio de la Cueva por hacerme parte de su mundo complicado.

A todo el personal administrativo, técnicos, de limpieza y vigilancia que me regalaron una sonrisa entre pasillos he hicieron más amena mi estancia en cicese.

A mi comité

Dr. Miguel Ángel del Río Portilla.

Agradezco infinitamente su interés para que esta tesis fuera un trabajo de calidad en fondo y estilo, por sus continuos comentarios y persistencia para mejorarlo.

Dr. Saúl Álvarez Borrego.

Por explicarme con palabras claras y llanas una inmensidad de conceptos complejos. Y por llevarme de la mano por el entendimiento de la dinámica oceanográfica.

Dr. Oscar Sosa Nishizaki.

Sin duda sus comentarios mejoraron en mucho el contenido de este escrito. Gracias por ayudarme a encontrar mi nicho. Soy una naranja muy feliz.

Dr. Roberto Enriquez Andrade

Por nutrir mi interés en la economía ambiental y el manejo de recursos.

Dr. Axayácatl Rocha Olivares

Gracias, porque lograste que me fuera enamorada de la genética.

CONTENIDO

| | | Página |
|---------|---|---------------|
| I. | INTRODUCCIÓN | 1 |
| I.1. | Genética poblacional del dorado..... | 3 |
| I.2. | Importancia económica y pesquerías | 4 |
| I.3. | Importancia de la genética poblacional en manejo pesquero | 6 |
| I.4. | Estructura y flujo genético | 7 |
| I.5. | Genética poblacional de especies pelágicas a distintas escalas geográficas..... | 7 |
| II. | HIPÓTESIS | 11 |
| III. | OBJETIVOS | 12 |
| III.1. | Objetivo general..... | 12 |
| III.2. | Objetivos particulares | 12 |
| IV. | MATERIALES Y MÉTODOS | 13 |
| IV.1. | Área de estudio | 13 |
| IV.2. | Muestreo | 15 |
| IV.3. | Análisis de laboratorio | 16 |
| IV.3.1. | Extracción y purificación de ADN | 16 |
| IV.3.2. | Amplificación de microsatélites | 17 |
| IV.3.3. | Genotipificación de microsatélites..... | 18 |
| IV.4. | Análisis estadísticos..... | 19 |
| IV.4.1. | Diversidad genética..... | 19 |
| IV.4.2. | Representatividad del tamaño de muestra | 20 |
| IV.4.3. | Estructura genética..... | 20 |
| IV.4.4. | Stock por regiones geográficas | 21 |
| IV.4.5. | Stock por escalas de distancia..... | 21 |
| IV.4.6. | Flujo genético | 22 |
| IV.4.7. | Aislamiento por distancia | 23 |
| IV.4.8. | Reconstrucción filogenética..... | 23 |
| IV.5. | Proyección de escenarios de manejo | 24 |

CONTENIDO (continuación)

| | Página |
|--|--------|
| IV.5.1. Escenario A..... | 24 |
| IV.5.2. Escenario B..... | 24 |
| IV.5.3. Escenario C..... | 24 |
| V. RESULTADOS | 26 |
| V.1. Muestreo | 26 |
| V.2. Diversidad genética..... | 26 |
| V.3. Descubrimiento de alelos..... | 29 |
| V.4. Estructura genética..... | 30 |
| V.5. Flujo genético entre poblaciones | 34 |
| V.6. Aislamiento por distancia | 34 |
| V.7. Patrones filogeográficos | 35 |
| VI. DISCUSIÓN | 37 |
| VI.1. Diversidad genética..... | 37 |
| VI.2. Estructura genética y flujo genético..... | 39 |
| VI.3. Patrones filogeográficos | 44 |
| VI.4. Perspectivas de Manejo | 44 |
| VII. CONCLUSIONES | 45 |
| VIII. LITERATURA CITADA | 46 |
| IX. APÉNDICE I | 56 |
| IX.1. FAMILIA SCOMBRIDAE..... | 56 |
| IX.1.1. Barrilete listado (<i>Katsuwonus pelamis</i>)..... | 56 |
| IX.1.2. Atún aleta azul sureño (<i>Thunnus maccoyi</i>)..... | 57 |
| IX.1.3. Atún Aleta Amarilla (<i>Thunnus albacares</i>)..... | 57 |
| IX.1.4. Atún patudo (<i>Thunnus obesus</i>) | 59 |
| IX.2. FAMILIA ISTHIPHORIDAE | 61 |
| IX.2.1. Marlin azul (<i>Makaira nigricans</i>) | 61 |
| IX.2.2. Marlin rayado (<i>Tetrapturus audax</i>) | 62 |

CONTENIDO (continuación)

| | Página |
|--|---------------|
| IX.2.3. Pez Vela (<i>Istiophorus platypterus</i>) | 62 |
| IX.3. FAMILIA XIPHIIDAE..... | 64 |
| IX.3.1. Pez espada (<i>Xiphias gladius</i>) | 64 |

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|---|---------------|
| Figura 1. Pez dorado (<i>Coryphaena hippurus</i>) | 2 |
| Figura 2. Ciclo anual de circulación superficial basado en sensores a la deriva. Tomado de Kessler, 2006. | 14 |
| Figura 3. Localidades de muestreo en el Pacífico Mexicano y Pacífico Central..... | 15 |
| Figura 4. Frecuencia de cada una de las variantes alélicas por <i>locus</i> en cada localidad. | 27 |
| Figura 5. Descubrimiento de alelos en función del tamaño de alelos muestreados al azar .. | 29 |
| Figura 6. Correlación entre distancia geográfica y grado de diferenciación entre localidades | 35 |
| Figura 7. Árbol filogenético agrupa las localidades de acuerdo al grado de diferenciación genética con valores R_{ST} | 35 |
| Figura 8. Árbol consenso de 500 árboles posibles a partir de alelos compartidos entre las localidades | 36 |
| Figura 9. Heterocigosidad observada en cada <i>locus</i> y por localidad. | 38 |

LISTA DE TABLAS

| | Página |
|---|---------------|
| Tabla I. Localidades de muestreo, tamaño de muestra (n) y fecha de captura | 16 |
| Tabla II. Cebadores, secuencias, motivo repetitivo y temperaturas de anillamiento..... | 18 |
| Tabla III. <i>Loci</i> polimórficos, tamaño de alelos en pares de bases (pb), motivos de repetición por <i>locus</i> y número de alelos por locus (<i>A</i>) en el dorado..... | 27 |
| Tabla IV. Diversidad de <i>loci</i> microsatelitales de <i>Coryphaena hippurus</i> . Número de organismos analizados por cada <i>locus</i> (<i>n</i>), Número de alelos (<i>A</i>), Alelos privados por locus y localidad (privados) Heterocigosidad esperada (H_E) y Heterocigosidad observada (H_O) por <i>locus</i> y población, significancia de prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (H_W), Número de alelos promedio por población (A_p)..... | 28 |
| Tabla V. Análisis de variancia (F_{ST}) y análisis de variancia molecular (R_{ST}) de <i>Coryphaena hippurus</i> en ocho localidades del Pacífico mexicano a partir de cinco <i>loci</i> microsatelitales | 30 |
| Tabla VI. Índices de fijación de las comparaciones pareadas. Valores F_{ST} debajo de la diagonal y su valor P de significancia arriba. | 31 |
| Tabla VII. Índices de fijación de las comparaciones pareadas de valores R_{ST} debajo de la diagonal y su valor P de significancia arriba. | 31 |
| Tabla VIII. Análisis de variancia molecular R_{ST} de cuatro grupos regionales a priori, Grupo 1 Norte (Sonora Sinaloa BCS) Grupo 2 Centro (Jalisco Colima) Grupo 3 Sur (Oaxaca Chiapas) y Grupo 4 (Hawai) prueba de significancia 20 mil permutaciones. | 32 |
| Tabla IX. Análisis de variancia molecular a priori para probar grupos por escalas de distancia, Grupo 1 todas las localidades continentales y Grupo 2 (Hawai) prueba de significancia 20 mil permutaciones. | 33 |
| Tabla X. AMOVA de R_{ST} a posteriori, Grupo 1 Colima, Grupo 2 Chiapas, Grupo 3 Sinaloa y Grupo 4 (Sonora, BCS, Jalisco, Oaxaca y Hawai) | 33 |
| Tabla XI. Flujo genético entre poblaciones, determinada por el número de migrantes F_{ST} arriba de la diagonal y R_{ST} debajo de la diagonal..... | 34 |

LISTA DE TABLAS (continuación)**Página**

Tabla XII. Comparación de estudios de genética poblacional con distintos marcadores moleculares de especies con alto potencial de migración. Homogeneidad (=) heterogeneidad (\neq). La escala geográfica del estudio refiere mayor (>) a comparación entre cuencas oceánicas y de mediana (<) la comparación de localidades dentro de una cuenca. AL (alozimas) MIT (ADN mitocondrial) NUC (ADN nuclear).41

LISTA DE FORMULAS

| | Página |
|--|---------------|
| 1. H=heterocigosidad, n=número de individuos, x_i , frecuencia de cada alelo | 20 |
| 2. Nm=número de migrantes, R_{ST} =Medida de diferenciación genética | 22 |

I. INTRODUCCIÓN

El dorado (Coryphaenidae: *Coryphaena hippurus* L.) (Gibbs y Collette, 1959) es un pez pelágico altamente migratorio (Graves, 1998) que reside en aguas cálidas superficiales de todos los océanos dentro del cinturón tropical entre los 40°N y 40°S (Norton, 1999). Esta especie (Figura 1) tiene un alto potencial de desplazamiento sin embargo, por sus características biológicas, es posible que las condiciones ambientales u oceanografía puedan impedir sus movimientos en diferentes escalas de distancias. Con este estudio queremos probar si organismos *C. hippurus* provenientes de diferentes localidades del Pacífico Nororiental presentan estructura genética poblacional o si son una población genéticamente homogénea. En México, la NOM-017-PESC-1994 reserva la captura del dorado a la pesca deportiva (D.O.F. 1995), lo cual ha sido tema de debate por la disyuntiva entre beneficios económicos para los distintos sectores pesqueros, así como por el desconocimiento de su estructura poblacional. Estudios de genética poblacional de algunas especies pelágicas similares al dorado en su potencial de migración, han demostrado diferenciación genética, aún cuando son altamente migratorias. La biológica y estacionalidad del dorado indican la probable preferencia a sitios de desove (Oxenford, 1999). Asimismo, es posible que la dinámica oceanográfica pueda impedir sus movimientos, puesto que se encuentra restringido a ciertas temperaturas y concentraciones de salinidad y oxígeno (Kraul, 1999). Si el ambiente limita el desplazamiento del dorado, entonces podrían existir subpoblaciones discretas a lo largo de distribución. El obtener datos genéticos de dorados en distintas escalas geográficas, quizá nos ayude a identificar

stocks potenciales que nos sugieran cuál debe ser el manejo del dorado en el Pacífico Nororiental.

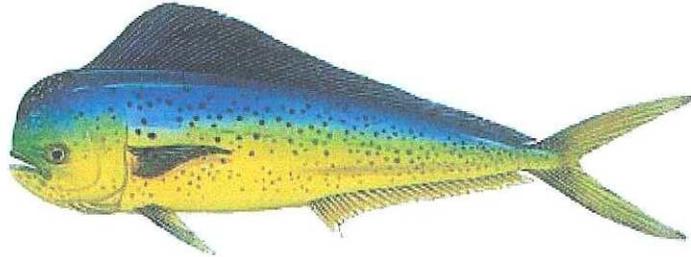


Figura 1. Pez dorado (*Coryphaena hippurus*)

En el Pacífico Mexicano, Golfo de California e Islas de Hawai el dorado se captura durante todo el año (Madrid y Beltran-Pimineta, 2001; Kraul, 1999). Kingsford y Defries (1999) sugieren que sus movimientos pueden estar influenciados por artefactos a la deriva. El dorado tiene una alta tasa metabólica (Benetti *et al.*, 1995) y es altamente dependiente del oxígeno (Kraul, 1999). Generalmente experimenta un crecimiento rápido, el cual es directamente proporcional al incremento de temperatura (Kraul, 1999; Mahon y Oxenford, 1999; Oxenford, 1999). Son peces altamente fecundos y pueden reproducirse de dos a tres ocasiones en cada evento (Oxenford, 1986; Massuti y Morales-Nin, 1995). La eclosión ocurre después de 60 h y se limita por condiciones físico-químicas (Massuti y Morales-Nin, 1995), de igual manera sus larvas están sujetas a periodos discretos de supervivencia por las condiciones ambientales (García-Melgar, 1995), por ello, la abundancia estacional puede estar relacionada con la tasa de mortandad de las cohortes y de los cambios en el régimen de temperatura superficial (Kraul, 1999). Por muerte natural se

estima que el dorado tiene un máximo de vida de cuatro años, sin embargo su longevidad promedio es dos años y está en función de las condiciones ambientales (Mahon y Oxenford, 1999).

I.1. Genética poblacional del dorado

En la zona del Pacífico Nororiental el estudio comparativo en tallas de dorados capturados en tres épocas del año, sugieren la presencia de diferentes subpoblaciones lo cual se atribuye a las condiciones ambientales (Madrid y Beltrán-Pimienta, 2001). Sin embargo, estas diferencias también podrían ser resultado de diferenciación genética (Oxenford y Hunte, 1986; Allendorf *et al.*, 1987). Herzig (1990) observó diferencias entre dorados capturados en Hawai y Taiwán en secuencias del gen del citocromo *b* del ADNmit, a pesar de no ser éste un estudio de genética poblacional, menciona que si el análisis de secuencias señala diferencias, entonces con un mayor tamaño de muestra se podrían probar diferentes stocks y comprender mejor la estructura poblacional de la especie. Díaz-Jaimes *et al.* (2006) en el Pacífico mexicano durante los años 2001-2005, trataron de probar estas diferencias a través de la secuenciación de 751pb del gen NAHD1 del ADNmit, ellos no pudieron rechazar la hipótesis nula de homogeneidad entre localidades ni en diferentes años. Por otro lado Rocha-Olivares *et al.* (2006) con el gen NAHD1 pero con polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLPs) evaluaron los niveles de variabilidad genética y conectividad entre poblaciones del Pacífico mexicano y Hawai. Sus resultados muestran heterogeneidad genética global, siendo BCS la localidad más distinta en las comparaciones pareadas. Indican que la frecuencia de haplotipos en todas las localidades fue significativamente heterogénea, el análisis de varianza molecular explicada

por la estructura fue pequeño, pero altamente significativo, aunque el grado de diferenciación basado en frecuencias haplotípicas no fue distinto de cero. El estudio de genética poblacional de dorado para la zona del Pacífico Nororiental es incipiente, por ello aún no se cuenta con suficiente información acerca de su estructura genética. Esto posiblemente sea resultado de que los marcadores moleculares con los que se ha trabajado, a pesar de presentar cierta variabilidad no han podido identificar stocks genéticos significativamente distintos. La evidencia de diferenciación genética poblacional del dorado en otras partes del mundo indica que la especie puede presentar subpoblaciones a lo largo de su distribución (Oxenford y Hunte, 1986; Cimmaruta, 1998).

I.2. Importancia económica y pesquerías

El dorado es de gran importancia económica en pesca deportiva y comercial al soportar pesquerías a lo largo de su distribución, en pesca comercial representa altas tasas de captura, mismas que varían de una región a otra, dependiendo de las artes de pesca y estatus de manejo de cada país (Palko *et al.*, 1982). En pesca deportiva el dorado es una presea cotizada por el turismo nacional e internacional, entre otras cosas por sus características fenotípicas y de comportamiento (Eschmeyer y Herald, 1983). La pesca deportiva en México se practica en aproximadamente 44 puertos en ambos litorales, de los cuales el dorado se captura en 34 de ellos. Esta práctica constituye una fuente importante de ingresos, ya que contribuye a la economía nacional, entre otros aspectos por su capacidad para generar empleo e impulsar el desarrollo regional, cuyos beneficios se propagan a otras actividades con un efecto multiplicador en los sectores turístico, pesquero y de servicios (D.O.F., 1995). En ese sentido, durante mucho tiempo la captura del pez dorado, aunada a

la de otros peces de importancia para la pesca deportiva, ha sido una fuente importante de divisas para el país. El artículo 13 de la Ley de Pesca reserva la captura del pez dorado al uso exclusivo de pesca deportiva, situación que ha generado también la pesca comercial clandestina, por ello surge la demanda por el sector pesquero comercial y ribereño de considerar al dorado como una especie susceptible de incluirse en la explotación comercial. Ellos argumentan que el permitir su captura representaría un enorme beneficio para los pescadores, en particular para los que no disponen de suficientes recursos, por lo que posibilitar la explotación comercial de la especie mejoraría las condiciones económicas de las personas dedicadas a la actividad pesquera, en tanto que daría lugar a una mayor diversificación de la captura (Gaceta parlamentaria, 2004).

La demanda por ambos sectores pone en disyuntiva si el estatus de exclusividad del dorado debería desaparecer y su pesca abrirse a la flota comercial en México. Desafortunadamente, no se cuenta con información suficiente acerca de stocks propuestos para tomar medidas de manejo. Por otra parte al ser una especie altamente migratoria, el dorado rebasa fronteras fuera de territorio nacional donde su aprovechamiento no es exclusivo a la pesca deportiva, esta situación representa un costo de oportunidad para los pescadores mexicanos, por ello además de realizar estudios a peces capturados en el Pacífico mexicano, también se ha sugerido el estudio de peces capturados en mares de otra jurisdicción para probar si los organismos capturados en distintos países pertenecen a una misma o a distintas poblaciones y poder tomar las medidas pertinentes.

I.3. Importancia de la genética poblacional en manejo pesquero

En la administración de pesquerías se requiere de análisis biológico-pesqueros que contengan además de herramientas tradicionales, técnicas vigentes en el campo de la biología molecular (Grijalva-Chon, 1994). Se ha reconocido la importancia de la genética poblacional para delimitar subpoblaciones e identificar stocks o unidades de manejo (Allendorf *et al.*, 1987; Hedrick, 2000). Los stocks que se definen como grupos intraespecíficos de individuos con intercambio genético e integridad espacial y temporal suelen estar adaptados a condiciones locales. En pesquerías, el considerar a diferentes stocks como uno solo, puede propiciar una supervivencia y reproducción diferencial de peces con composición genética distinta, lo cual puede redundar en perjuicio de aquella población con menor capacidad de soportar la presión pesquera (Allendorf *et al.*, 1987). En el caso de las pesquerías, dado que los recursos están sujetos a explotación constante, nos interesa conocer cómo fluctúan esas subpoblaciones en tiempo y espacio, esto es posible revelarlo con el uso de herramientas moleculares que nos indican, de manera indirecta, cómo se distribuyen y cuál es la contribución proporcional de cada subpoblación al reservorio genético. Con esta información es posible diseñar estrategias de manejo que consideren el aprovechamiento independiente de cada stock. Sin embargo, lo óptimo es que la información que develen los análisis genéticos sea complementada con datos de esfuerzo pesquero regional, así como de estudios de dinámica poblacional y ecología de cada especie, que deriven de métodos tradicionales, para proponer estrategias de manejo particulares y globales que encaminen a un uso sustentable y beneficio bioeconómico del recurso (Mahon y Oxenford, 1999).

I.4. Estructura y flujo genético

El flujo genético que es la transferencia de genes de una población a otra por migración, puede ser detenido por barreras físicas, químicas, ecológicas o biológicas, o por la distancia geográfica que eviten la dispersión de organismos. La conectividad de las subpoblaciones estará en función de qué tan acentuadas sean dichas barreras para impedir en mayor o menor grado la migración. Asimismo, efectos de endogamia, selección natural, deriva génica y mutación pueden acelerar la diferenciación entre las subpoblaciones (Slatkin, 1987; Hedrick, 2000). El efecto neto de estos procesos en la estructura genética lo podemos evaluar con el uso de marcadores moleculares. El marcador molecular más apropiado para estimar la estructura y flujo genético, depende de su tasa evolutiva, de la especie estudiada, del tamaño de muestra, del número de localidades, y de decisiones prácticas como los recursos materiales y humanos disponibles (Kocher, 1989; Palumbi, 1996).

I.5. Genética poblacional de especies pelágicas a distintas escalas geográficas

Muchas especies pelágicas marinas se distribuyen ampliamente y habitan aguas superficiales en el cinturón circumtropical (Briggs, 1960). Algunas de estas especies incluyen atunes, picudos y dorados, así como varias especies de tiburón, que son recursos de gran importancia al soportar grandes pesquerías comerciales y deportivas a lo largo de sus rangos geográficos (Graves, 1998). No es difícil pensar que la distribución de las especies pelágicas con amplios rangos geográficos, cambiará de acuerdo a sus etapas

ontogénicas, lo cual hará que a lo largo del año se encuentren en diferentes sitios y eventualmente coexistan con sus congéneres, que quizá y muy posiblemente conlleve a eventos reproductivos, que son requisito para que haya flujo genético entre las poblaciones (Slatkin, 1987). Esto nos hace especular que las poblaciones a pesar de sus grandes travesías en todo el cinturón tropical, puedan presentar tanto estructura genética como homogeneidad a diferentes escalas geográficas. Dicho argumento nos lleva a considerar que las poblaciones de pelágicos deban ser evaluadas con fines de manejo particulares con base a su distribución y/o a su estructura genética.

La estructura genética de las poblaciones puede darse a diferentes escalas tanto temporales como espaciales (Slatkin, 1987), ocurre principalmente por una disminución en el flujo genético y la conectividad que existe entre subpoblaciones. Estudios de genética poblacional de especies altamente migratorias han indicado que son poblaciones homogéneas a lo largo de su distribución, ya que no existen barreras evidentes que limiten su dispersión (Graves, 1998). Diversos autores han estudiado especies con amplio potencial de migración utilizando marcadores moleculares con distintos niveles de resolución, para probar si efectivamente no existe estructura genética poblacional a diferentes escalas geográficas.

En el caso de atún aleta amarilla AAA (*Thunnus albacares*) el resultado de los estudios de genética poblacional han sido consistentes con la hipótesis nula de homogeneidad para cualquiera de las escalas y con el uso de marcadores de distintas tasas evolutivas (ver apéndice 1 sección IX.1.3.). Asimismo, el atún azul (*Thunnus maccoyi*) especie que se encuentra de manera exclusiva al sur del cinturón circumtropical, también

presentó homogeneidad entre localidades de Australia y el sur de África (ver apéndice I sección IX.1.2.). De igual forma, poblaciones de *Istiophorus platypterus*, *Makaira nigricans* y *Tetrapturus albidus* (ver apéndice I sección IX.2.) dentro del Atlántico no mostraron diferencias genéticas (McDowell y Graves 2002, Graves y McDowell, 2001) y tampoco las de *Xiphias gladius* (apéndice I sección IX.3.) dentro del Pacífico (Grijalva-Chon *et al.*, 1994).

Sin embargo, existe clara evidencia de que no todas las especies con una gran potencial de migración presentan este patrón de homogeneidad. Sino que algunas de ellas divergen genéticamente en subpoblaciones discretas a lo largo de su distribución. Por ejemplo, el estudio de *Thunnus obesus* (apéndice I sección IX.1.4.) demostró estructura genética a escala global al comparar muestras del Atlántico, Pacífico e Índico-Pacífico y no cuando el estudio era de mediana escala o dentro de cuencas (Alvarado-Bremer *et al.*, 1998 y Chow *et al.*, 2000), estos resultados sugieren que la migración está restringida entre cuencas. Asimismo, *Makaira nigricans* presentó diferenciación entre los océanos Atlántico y Pacífico (Finnerty y Block 1992) y *Xiphias gladius* mostró estructura entre Pacífico, Atlántico y Mar Mediterráneo (Rosel y Block, 1996; Reeb *et al.*, 2000).

Los estudios mencionados indican diferencias en escalas grandes de distancias, sin embargo también se ha comprobado estructura poblacional a menores escalas. Este es el caso de *Tetrapturus audax* que presentó estructura genética en localidades dentro del Pacífico (Graves y McDowell, 1994). Chow *et al.* (1997) comprobaron la estructura genética de *Xiphias gladius* no sólo entre sino dentro de los Océano Pacífico, Atlántico, Mar Mediterráneo y del Océano Índico. Esto comprueba que a nivel mundial los peces

espadas están estructurados genéticamente, lo cual sugiere un flujo genético restringido a pesar de la ausencia de barreras geográficas. Otra evidencia de diferencia genética a escala menor es el estudio de Nohara *et al.* (2003) quienes encontraron que el pez vela presenta dos poblaciones genéticamente diferentes en el Atlántico con poco flujo genético entre ellas, una se encuentra esencialmente a los 20 grados N y la otra a los 10 S.

En el apéndice I, se presenta una revisión de estudios de genética poblacional realizados en especies de peces óseos pelágicos con alto potencial de migración, ordenada taxonómicamente.

II. HIPÓTESIS

Se propusieron las siguientes hipótesis para probar si organismos *C. hippurus* provenientes de distintas localidades del Pacífico Nororiental, presentan estructura genética poblacional o si son una población genéticamente homogénea.

Ho1. No existe diferenciación genética entre muestras de dorado provenientes de diferentes localidades del Pacífico Nororiental.

Ha1. Los dorados capturados en las localidades del Pacífico Nororiental provienen de subpoblaciones genéticamente diferenciadas

En caso de que Ho1 sea rechazada:

Ho2. No existe correlación entre la distancia genética de los individuos *C. hippurus* y su distancia geográfica

Ha2. Las distancias genética y geográfica varían en forma directa

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Determinar el grado de diferenciación genética de *C. hippurus* a distintas escalas geográficas y la relación que guardan las distancias geográfica y genética.

III.2. Objetivos particulares

1. Determinar los genotipos de los individuos utilizando marcadores microsatelitales
2. Estimar la diversidad genética dentro de cada localidad por medio de número de alelos por *locus* e índices de heterocigosidad (H).
3. Probar el equilibrio de Hardy–Weinberg por *locus* y por localidad.
4. Determinar el grado de diferenciación genética entre localidades por medio de los índices de fijación (F_{ST} y R_{ST})
5. Estimar los niveles de flujo genético (Nm) entre localidades.
6. Correlacionar las distancias geográficas entre localidades con el grado de diferenciación genética
7. Proyectar escenarios de manejo para cualquiera de los posibles resultados genéticos de las poblaciones

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Área de estudio

En el Pacífico Nororiental no se han identificado rutas migratorias del dorado. Sin embargo, éste se encuentra hasta los 35°N en California donde se captura incidentalmente en julio-septiembre en años cálidos con ENSO (Norton, 1994). En la boca del Golfo de California y en el Pacífico mexicano reside todo el año, con picos de abundancia en primavera (Castro y Gómez, 1991; Madrid y Beltrán-Pimienta, 2001). En la zona del Pacífico Central se captura en todas las Islas de Hawai con un pico de abundancia en marzo y otro en noviembre (Kraul, 1999). En su etapa juvenil forma cardúmenes cercanos a la costa (Oxenford, 1999).

El carácter transicional del Pacífico Tropical Oriental es definido por la presencia de por lo menos tres diferentes masas de agua cercanas a la superficie. Se caracteriza por una masa de agua superficial de 35 ppm de salinidad llamada agua superficial del Pacífico. La circulación del Pacífico Tropical Oriental también muestra tres regímenes climáticos diferentes durante el año (Wyrki, 1965). De agosto a diciembre tanto la Corriente Surecuatorial (SEC) como la Contracorriente Ecuatorial son muy intensas. La Contracorriente fluye hacia la costa de Pacífico Mexicano y se une con la Corriente de Costa Rica (CRCC) en su movimiento hacia el Norte, ésta se une con la Corriente Norecuatorial (NEC) entre los 10 y 20°N. La corriente de California (CC) se separa de las costas de Baja California a la latitud de 25°N y alimenta la NEC. De febrero a abril la Corriente de California se intensifica y penetra hacia el sur hasta los 20 °S, aportando la

mayor parte del agua de la Contracorriente Norecuatorial (NECC). La NECC no ocurre durante este periodo, mientras la corriente Surecuatorial es débil y ocasionalmente presenta flujos hacia el ecuador. Más cerca de la costa, la CRCC está ausente y en su lugar se encuentra un flujo ciclónico alrededor del Domo de Costa Rica. Las corrientes hacia fuera de la costa de los golfos de Panamá y Tehuantepec son consistentes con el efecto de eventos locales. De mayo a julio la Contracorriente Ecuatorial se forma de nuevo y la mayor parte de sus aguas giran hacia al norte cerca de la costa, alimentando la Corriente de Costa Rica. Durante este periodo la CRCC es más fuerte y fluye a lo largo de la costa hasta la latitud de 20 °N en Cabo Corrientes (Figura 2). La Contracorriente Ecuatorial alimenta de aguas tibias hasta de 28°C en una amplia región desde el sur de CC y al norte de la SEC. Finalmente en el Golfo de Tehuantepec la influencia de la Contracorriente Ecuatorial y la Contracorriente de Costa Rica, acarrean aguas tibias (28°C) y de baja salinidad hacia el Golfo (Trasviña, 1991).

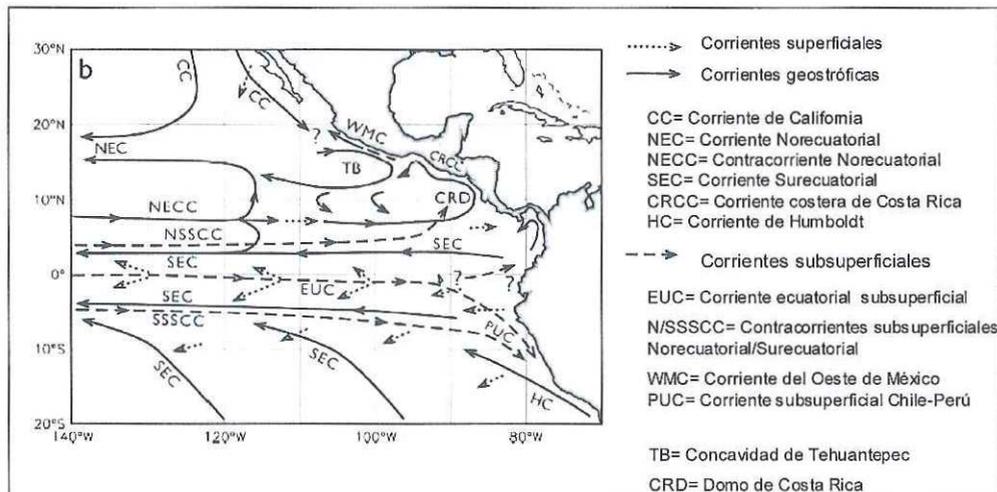


Figura 2. Ciclo anual de circulación superficial basado en sensores a la deriva. Tomado de Kessler, 2006.

IV.2. Muestreo

Se analizó tejido muscular de aproximadamente 50 organismos *Coryphaena hippurus* de ocho localidades del Pacífico Nororiental: Sonora, Sinaloa, Baja California Sur (B. C. S.), Jalisco, Colima, Oaxaca, Chiapas y Hawai capturados durante actividades de pesca deportiva (Figura 3, Tabla I). Este tejido fue preservado en etanol al 95% hasta su análisis en laboratorio.

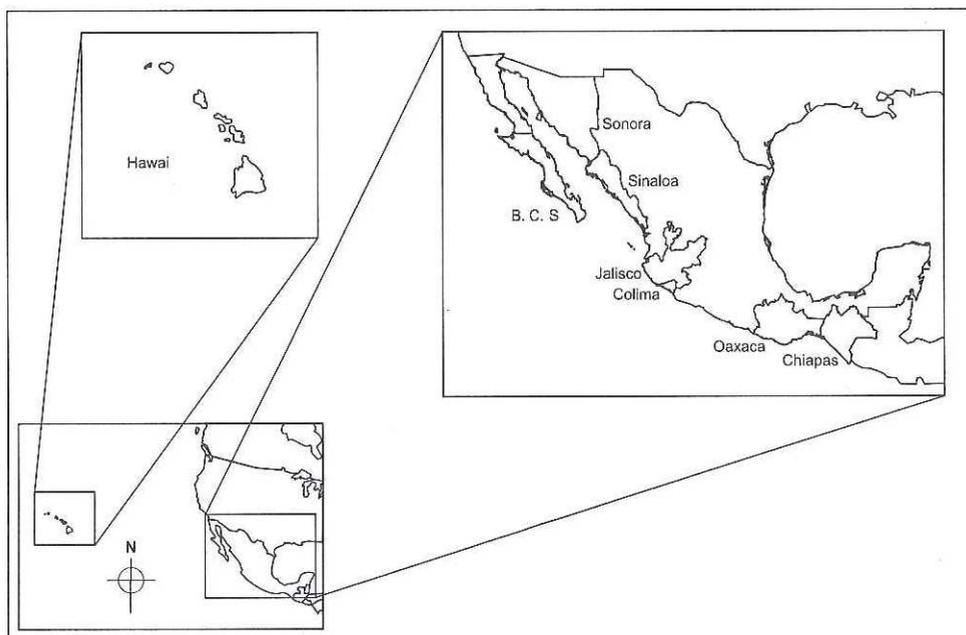


Figura 3. Localidades de muestreo en el Pacífico Mexicano y Pacífico Central

Tabla I. Localidades de muestreo, tamaño de muestra (n) y fecha de captura

| <i>Localidad</i> | <i>n</i> | <i>Año de colecta</i> |
|---------------------|----------|-----------------------|
| Sonora | 38 | 2003 |
| Sinaloa | 55 | 2004 |
| Baja California Sur | 53 | 2004 |
| Jalisco | 49 | 2006 |
| Colima | 62 | 2006 |
| Oaxaca | 50 | 2004 -2005 |
| Chiapas | 54 | 2004 -2005 |
| Hawai | 50 | 2004 |

IV.3. Análisis de laboratorio

IV.3.1. Extracción y purificación de ADN

Se extrajo el ADN de cada muestra de tejido empleando la técnica de extracción de LiCl (Aijanabi y Martínez, 1997), en la cual se digirieron 30 mg de tejido en amortiguador de extracción (100mM NaCl, 50 mM Tris-HCL, 1% SDS, 50 mM EDTA, pH 8.0) con 5 μ l de proteinasa K (20mg ml⁻¹) a 55 °C durante toda una noche, después de la digestión se precipitaron las proteínas con LiCl (300 μ l, 5 M) y se separaron los compuestos orgánicos hidrofóbicos con cloroformo:alcohol-isoamílico (600 μ l, 24:1), posteriormente el ADN se precipitó con acetato de sodio (50 μ l , 3 M) y etanol frío (1000 μ l, 100%). El producto se conservó en 100 μ l de amortiguador TE 1X (10 mM Tris-Cl, 1 mM EDTA, pH 8.0) a -20°C. Se verificó la presencia y calidad de ADN genómico en geles de agarosa al 1.5% donde se cargaron 3 μ l del extracto y se corrieron a 95 V por

aproximadamente 90 minutos, después el gel fue teñido con bromuro de etidio ($0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$) para su observación bajo luz U.V. Para todas las muestras se hicieron diluciones de ADN en el amortiguador TE 1X a 1:10, 3:10 y 1:100 dependiendo la calidad de la extracción del ADN.

IV.3.2. Amplificación de microsatélites

En este estudio se utilizaron microsatélites como marcador molecular, ya que al tener una alta resolución para cuantificar niveles de variación genética ha permitido observar diferenciación genética entre y dentro de poblaciones (Lee *et al.*, 1995). Además, por su rápida tasa mutacional permiten detectar dichas diferencias en escalas temporales y espaciales más cortas de lo que se esperaría con alozimas y ADN mitocondrial (Pella y Milner, 1987). Los microsatélites son regiones del genoma eucariótico en las que una secuencia corta (2-6 pb) se repite cierto número de veces. A partir de la demostración de la existencia de variabilidad genética en estas regiones y la posibilidad de su detección mediante amplificación por la Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR, los microsatélites se han convertido en la principal fuente de marcadores genéticos, ya que son abundantes, están distribuidos regularmente en el genoma, se heredan de forma mendeliana y poseen un elevado grado de variabilidad a nivel intraespecífico (Ashley y Dow, 1994).

De cada muestra se amplificaron cinco *loci* microsatelitales (Wingrove, 1999) en un termociclador *Termohybrid*® por medio de PCR, la cual consiste en generar miles de millones de copias de un fragmento específico de la cadena de ADN. Se hicieron reacciones de $10 \mu\text{l}$ constituidas por 0.2 mM dNTPs, 1X PCR (Tris 10mM, KCL 50 mM,

1.5 mM MgCl₂ , 0.5 μM de cada cebador y 0.5 U de Taq DNA-Pol. Estas reacciones se sometieron al siguiente perfil de temperaturas: un periodo inicial de desnaturalización de 3 minutos a 94 °C, seguido de 35 ciclos de 90s a 94 °C, mas 35s a 57 °C más un extensión final de 90s a 72 °C. Se verificó la presencia de ADN amplificado en electroforesis de agarosa al 1.5% a 90 V durante 30 min. Los cebadores utilizados para cada *locus*, así como sus temperaturas de anillamiento se muestran en la Tabla II.

Tabla II. Cebadores, secuencias, motivo repetitivo y temperaturas de anillamiento.

| <i>Cebador</i> | <i>Secuencia cebador (5' - 3')</i> | <i>Anillamiento (°C)</i> |
|-----------------|------------------------------------|--------------------------|
| <i>Chi008R</i> | GGC AGC AGT TCA GGA GGT TA | 57.1 |
| <i>Chi008F</i> | ATT GAT GAG GGT TCA GAC GG | 54.5 |
| <i>Chi008AR</i> | CCA AAC ATG TGA GTG CTG CT | 56 |
| <i>Chi008AF</i> | GGG CTC ATG ACA CAA ATT CC | 54.1 |
| <i>Chi037R</i> | GGG ATT GGT TCC CTC ACT CT | 56.4 |
| <i>Chi037F</i> | GAT ATC AGG CCT CCT GCT TG | 55.2 |
| <i>Chi023R</i> | CCC ATC TTG TGG AGG TTG AT | 54.6 |
| <i>Chi023F</i> | GAT GGG AGA CTC CAA CCT GA | 56.1 |
| <i>Chi002R</i> | GGC TTG CCA ACC TGA GAT TA | 55.1 |
| <i>Chi002F</i> | GAA AAA CTC ACA CGG TCA CTT G | 54.5 |

IV.3.3. Genotipificación de microsatélites

Los tamaños alélicos de los productos de PCR de microsatélites se identificaron por medio de electroforesis en capilares con gel desnaturalizante de poliacrilamida 6% en un secuenciador automático Gene Analyzer ABI 3100 (Applied Biosystems Inc, CA). El

tamaño de los alelos en pares de bases (pb) se determinó con el programa GeneMapper™ (Applied Biosystems Inc, CA) con una escalera de 500 pb (ROX500). Se realizó un control de calidad de los genotipos a través de la observación de alelogramas que indicaban picos de fluorescencia a diferentes intensidades. Cuando las intensidades eran elevadas y no dejaban ver la cresta de los picos, se diluyeron las reacciones de PCR a 1:20 o dependiendo la cantidad y calidad ADN. Asimismo cuando las intensidades fueron muy bajas y no se veía ninguna forma alélica o había más de dos picos o formas diferentes a los patrones establecidos se procedió a repetir la PCR. Los tamaños en pares de bases se transformaron a motivos de repetición de acuerdo a los intervalos (o bins por su nombre en inglés) establecidos con ayuda de los alelogramas.

IV.4. Análisis estadísticos

IV.4.1. Diversidad genética

La diversidad genética se cuantificó mediante el número de alelos por *locus* y por su heterocigosidad (H). Esta última se refiere a la probabilidad de muestrear dos alelos al azar y que estos sean diferentes o bien a la probabilidad de que al muestrear al azar un organismo sea heterocigoto (ecuación 1), dicho análisis se hizo con el programa GENEPOP versión 3.4 (Raymond y Rousset, 1995). Se realizó la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) cuya significancia se determinó por el método de cadenas de Markov (Guo y Thompson, 1992). El equilibrio de Hardy-Weinberg es un modelo que describe una población ideal, donde sus frecuencias alélicas no cambian de una generación a otra, bajo los supuestos de panmixia (reproducción al azar) y ausencia de cualquier fuerza evolutiva

como son sección natural, deriva genética al azar o mutación, además de la ausencia de flujo genético por migración o emigración.

$$H = \frac{n(1 - \sum_{i=1}^l x_i^2)}{n-1} \quad (1)$$

1. H =heterocigosidad, n =número de individuos, x_i , frecuencia de cada alelo

IV.4.2. Representatividad del tamaño de muestra

Para verificar si el tamaño de muestra de este estudio era suficiente para evaluar la diversidad relativa entre *loci* se utilizó el macro de Excel ©Resampling Stats, Inc. Este método consiste en ver la cantidad de alelos que se encontrarían si se recolectara n veces distintos tamaños de muestra. Se utilizaron 1000 iteraciones de muestras aleatorias con reemplazo del total de alelos por *locus*. El tamaño inicial fue de $2n = 25$ hasta $2n = 300$. Los resultados se presentaron como curvas de descubrimiento de alelos.

IV.4.3. Estructura genética

Para determinar estructura genética poblacional se probó la hipótesis nula de panmixia, a través del índice de fijación F_{ST} , el cual es una medida de diferenciación genética basada en la frecuencia de los alelos en cada localidad. Cuando F_{ST} es igual o cercano a 0, la heterocigosidad promedio de todas las subpoblaciones es equivalente a la esperada para el total de la población, por lo que existe homogeneidad genética o panmixia.

Cuando F_{ST} tiene un valor cercano a 1, entonces los efectos de pérdida de heterocigosidad debida a subdivisión poblacional o efecto Wahlund son equivalentes a los esperados por endogamia dentro de cada localidad (Weir y Cockerham, 1984; Excoffier *et al.*, 2005). También se realizó un análisis de variancia molecular R_{ST} , que es análogo al F_{ST} pero el cual incorpora información sobre el grado de diferenciación molecular por las diferencias cuadráticas en tamaños alélicos, que se miden y comparan con base en el número de repeticiones por alelo. Los alelos con motivos de repeticiones similares estarán más emparentados que aquellos alelos más disímiles. Éstas diferencias en motivos son traducidos como distancias genéticas. Este análisis permite descomponer la variancia molecular en tres niveles jerárquicos: dentro de localidades, entre localidades y entre regiones geográficas (Excoffier *et al.* 2005; Weir, 1996).

IV.4.4. Stock por regiones geográficas

Para probar la existencia de stocks genéticamente diferenciados con base a su distribución, se agruparon las localidades más cercanas entre ellas y se propusieron las siguientes cuatro regiones geográficas; región norte (Sonora, Sinaloa y B.C.S), región centro (Jalisco y Colima), región sur (Oaxaca y Chiapas) y una región oceánica (Hawai). Para ello se realizó un análisis de variancia molecular con los índices R_{ST} .

IV.4.5. Stock por escalas de distancia

Se realizó un análisis de variancia molecular con los índices R_{ST} de dos grupos para probar la diferenciación entre escalas de distancia, el grupo uno se conformó de todas

las localidades dispuestas en el continente y el grupo dos sólo incluyó Hawai por ser ésta la localidad más lejana geográficamente.

IV.4.6. Flujo genético

El flujo génico es una estimación relevante para conocer la estructura de una población, ya que éste nos indica hasta qué punto cada población local de una especie es una unidad evolutiva independiente. Si existe una gran cantidad de flujo génico entre poblaciones locales, entonces todas las subpoblaciones evolucionan juntas; pero si hay poco flujo génico entre ellas entonces la evolución de cada una es independiente (Slatkin, 1993). Para estimar el flujo genético que existe entre poblaciones utilizamos los valores de R_{ST} obtenidos en el AMOVA del programa de Arlequín 3.1 (ecuación 2, Slatkin, 1995). Este modelo nos da una estimación del número de organismos que migran entre localidades por generación.

$$Nm = \left(\frac{R_{ST}}{1 - R_{ST}} \right) \quad (2)$$

2. Nm =número de migrantes, R_{ST} =Medida de diferenciación genética

IV.4.7. Aislamiento por distancia

En genética poblacional nos interesa conocer si las poblaciones están diferenciadas y cuáles son los factores que puedan causar dicha diferenciación. La probabilidad de encuentro de los organismos en la misma o en diferentes localidades puede dar lugar a patrones específicos de diferenciación espacial. Esperamos que organismos que ocupan una misma área geográfica o una cercana, tendrán mayor probabilidad de intercambio de genes, que aquellos que se encuentren más alejados. El aislamiento por distancia nos explica que organismos que se encuentran en localidades más cercanas entre ellas serán genéticamente más cercanos o menos diferenciados, que aquellos que estén en los extremos de un rango de distribución. Este análisis se realizó con en el programa IBD (Isolation by Distance) correlacionando los valores de R_{ST} obtenidos en comparaciones pareadas de localidades y con las distancias geográficas lineares entre las localidades respectivas (Bohonak, 2002).

IV.4.8. Reconstrucción filogenética

Se utilizaron las distancias genéticas de valores R_{ST} para realizar una árbol filogenético Neighbor-Joining (Nei, 1987), por medio del programa Mega versión 3.1. (Kumar *et al.*, 2004). Asimismo, se creó un cladograma basado en las frecuencias alélicas con el programa Phylip versión 3.66 (Felsenstein, 2006) para ver la agrupación de localidades con base a alelos compartidos y explorar la existencia de algún patrón espacial de los organismos entre localidades.

IV.5. Proyección de escenarios de manejo

Se ha resaltado la importancia que tiene el obtener datos genéticos de los organismos capturados para proponer stocks. Los resultados que desprenda esta investigación pueden servir de base, para medidas de manejo tanto a nivel del estudio global, así como para cada una de las localidades. El resultado de esta investigación debe ser complemento de estudios de dinámica poblacional.

IV.5.1. Escenario A

Si hubiese estructura genética en la población o con flujo genético restringido entre localidades, entonces el manejo debe ser local y por pesquerías, tomado en cuenta que por estar aislados son más sensibles a la sobrepesca y es necesario hacer estudios sobre dinámica poblacional para conocer las tasas de reclutamiento para establecer cuotas de captura sostenibles.

IV.5.2. Escenario B

En caso de que las poblaciones presenten aislamiento por distancia entonces el manejo puede ser más local pero requiere de esfuerzos coordinados entre las pesquerías y localidades más cercanas.

IV.5.3. Escenario C

En caso de encontrar homogeneidad genética poblacional, se requiere cooperación entre todas las pesquerías, así como entre localidades, no se podría manejar

independientemente una de otra ya que la tasa de aprovechamiento por localidad, repercutiría a nivel global. Si el manejo es en territorio nacional e incluye los dos tipos de pesca (comercial y deportiva) entonces se deberían crear cuotas para cada pesquería. En caso de no abrir la pesca comercial, habría que asegurar que la pesca deportiva cumpla con las normas establecidas y evitar la pesca clandestina. La restricción de la pesca deportiva en México sólo debería tener efecto si existen acuerdos internacionales para que las medidas de prohibición de pesca comercial no representen un costo de oportunidad para los pescadores mexicanos.

V. RESULTADOS

V.1. Muestreo

Se obtuvieron muestras de tejido de dorados capturados en torneos de pesca deportiva de ocho localidades del Pacífico Nororiental. El tamaño de muestra (n) fue de 50 organismos en promedio (Tabla I).

V.2. Diversidad genética

Se amplificaron exitosamente cinco *loci* microsatelitales (*Ch02*, *Ch08*, *Ch8A*, *Ch37* y *Ch23*) los cuales fueron altamente polimórficos al mostrar entre 12 y 33 alelos. La variación de los tamaños alélicos en todos los *loci* varió de 67 a 167 pares de bases y de uno a 33 motivos repetitivos (Tabla III). La frecuencia de los alelos por *locus* en cada localidad variaron desde 0.90 hasta 41% (Figura 4). Las pruebas de equilibrio de Hardy-Weinberg dentro de las poblaciones indicaron que 11 de las 40 muestras (28%, Tabla IV) estuvieron significativamente fuera de equilibrio después de la corrección secuencial de Bonferroni. La variabilidad genética expresada como heterocigosidad observada varió de 0.70 a 0.95. Las únicas localidades que presentaron déficit de heterocigosis en más de un *locus* fueron Hawai (*Chi08*, *Ch8A*, *Ch37*) y Oaxaca (*Chi08*, *Ch8A*), mientras que algunas muestras presentaron exceso de heterocigosis (BCS, Jalisco y Chiapas, Tabla IV).

Tabla III. *Loci* polimórficos, tamaño de alelos en pares de bases (pb), motivos de repetición por *locus* y número de alelos por *locus* (A) en el dorado.

| <i>Tamaños alélicos</i> | | | |
|-------------------------|-----------|--------------------------|----------|
| <i>Locus</i> | <i>pb</i> | <i>número de motivos</i> | <i>A</i> |
| <i>Ch02</i> | 83 - 111 | 14 - 31 | 16 |
| <i>Ch08</i> | 104 - 168 | 1 - 37 | 33 |
| <i>Ch8A</i> | 102 - 161 | 1 - 31 | 21 |
| <i>Ch37</i> | 67 - 97 | 1 - 16 | 12 |
| <i>Ch23</i> | 85 - 117 | 3-19 | 15 |

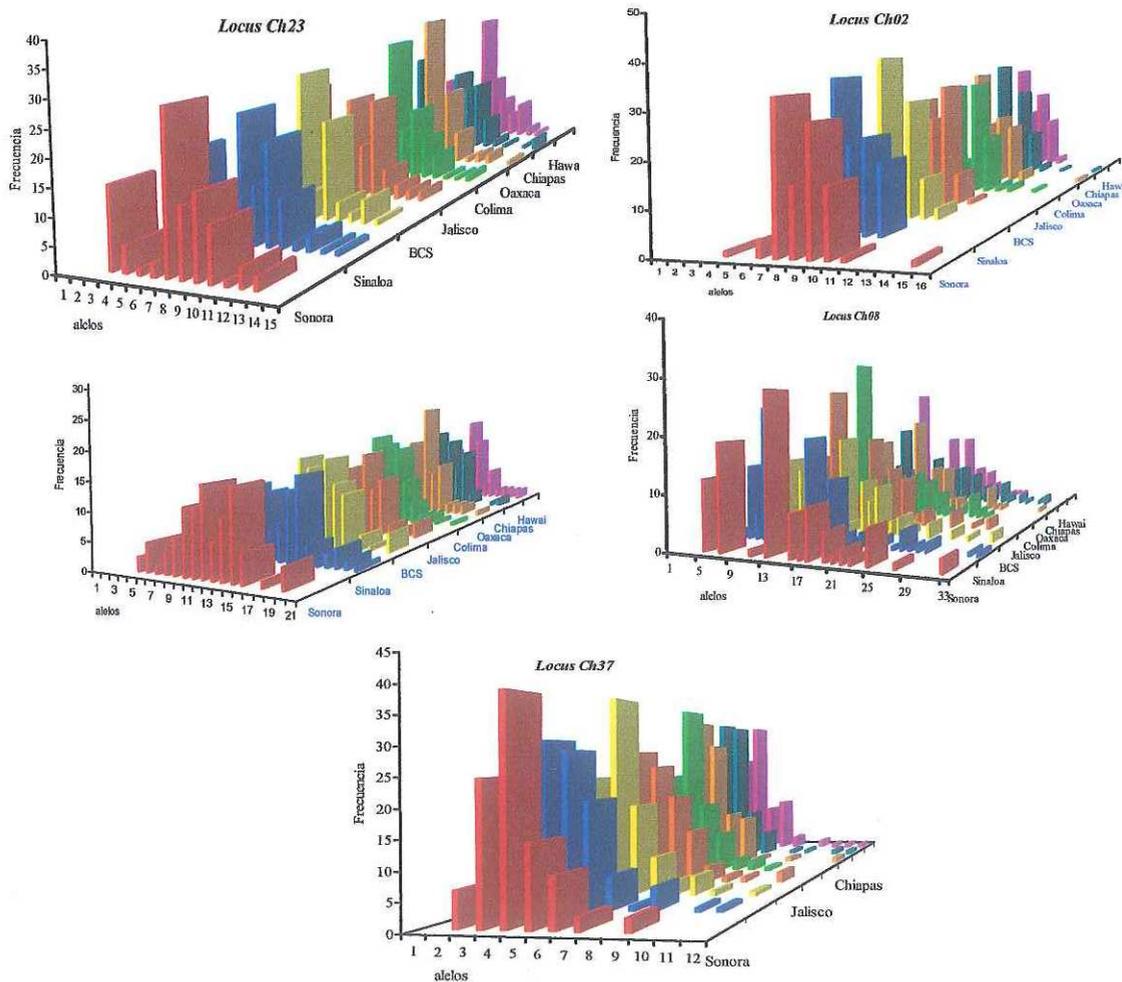


Figura 4. Frecuencia de cada una de las variantes alélicas por *locus* en cada localidad.

Tabla IV. Diversidad de loci microsatelitales de *Coryphaena hippurus*. Número de organismos analizados por cada locus (*n*), Número de alelos (A), Alelos privados por locus y localidad (privados) Heterocigosidad esperada (H_E) y Heterocigosidad observada (H_O) por locus y población, significancia de prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (HW), Número de alelos promedio por población (Ap).

| | <i>Sonora</i> | <i>Sinaloa</i> | <i>B. C. S.</i> | <i>Jalisco</i> | <i>Colima</i> | <i>Oaxaca</i> | <i>Chiapas</i> | <i>Hawaii</i> |
|-----------------------|---------------|----------------|-----------------|----------------|---------------|---------------|----------------|---------------|
| <i>Ch2</i> | | | | | | | | |
| <i>n</i> | 39 | 55 | 54 | 49 | 62 | 48 | 54 | 50 |
| A (privados) | 8 (1) | 6 | 8 | 8 | 10 (2) | 8 | 11 (4) | 6 |
| H_E | 0.770 | 0.749 | 0.724 | 0.756 | 0.766 | 0.779 | 0.761 | 0.755 |
| H_O | 0.897 | 0.800 | 0.704 | 0.755 | 0.726 | 0.857 | 0.833 | 0.800 |
| HW | NS | NS | 0.008 | NS | 0.024 | NS | < 0.001 | NS |
| <i>Ch8</i> | | | | | | | | |
| <i>n</i> | 39 | 54 | 54 | 48 | 61 | 48 | 53 | 49 |
| A (privados) | 14 | 24 (1) | 19 | 14 | 15 | 23 (1) | 23 (3) | 19 |
| H_E | 0.855 | 0.869 | 0.909 | 0.852 | 0.843 | 0.906 | 0.927 | 0.867 |
| H_O | 0.949 | 0.741 | 0.926 | 0.896 | 0.787 | 0.833 | 0.925 | 0.776 |
| HW | NS | NS | < 0.001 | NS | NS | < 0.001 | < 0.001 | < 0.001 |
| <i>Ch8A</i> | | | | | | | | |
| <i>n</i> | 39 | 55 | 54 | 49 | 62 | 48 | 54 | 50 |
| A (privados) | 14 | 18 (1) | 16 | 17 | 18 | 16 | 17 | 16 |
| H_E | 0.910 | 0.915 | 0.891 | 0.906 | 0.887 | 0.880 | 0.900 | 0.899 |
| H_O | 0.872 | 0.909 | 0.852 | 0.959 | 0.919 | 0.816 | 0.944 | 0.800 |
| HW | 0.030 | < 0.001 | NS | < 0.001 | < 0.001 | < 0.001 | NS | < 0.001 |
| <i>Ch37</i> | | | | | | | | |
| <i>n</i> | 38 | 54 | 52 | 44 | 62 | 47 | 52 | 50 |
| A | 7 | 10 | 9 | 10 | 9 | 8 | 9 | 11 |
| H_E | 0.756 | 0.771 | 0.744 | 0.799 | 0.757 | 0.739 | 0.713 | 0.762 |
| H_O | 0.789 | 0.741 | 0.731 | 0.705 | 0.806 | 0.750 | 0.750 | 0.700 |
| HW | NS | NS | NS | 0.049 | NS | NS | NS | < 0.001 |
| <i>Ch23</i> | | | | | | | | |
| <i>n</i> | 39 | 52 | 52 | 49 | 62 | 47 | 53 | 50 |
| A (privados) | 11 | 13 (1) | 12 (1) | 11 | 12 | 11 | 12 | 10 |
| H_E | 0.844 | 0.847 | 0.835 | 0.840 | 0.832 | 0.806 | 0.849 | 0.819 |
| H_O | 0.821 | 0.808 | 0.769 | 0.857 | 0.855 | 0.771 | 0.906 | 0.820 |
| HW | NS | NS | NS | NS | NS | 0.021 | NS | NS |
| HW Todas | NS | NS | 0.040 | NS | 0.015 | 0.005 | NS | 0.020 |
| Total Alelos privados | 1 | 3 | 1 | 0 | 2 | 1 | 7 | 0 |
| Ap | 10.8 | 14.2 | 13 | 12 | 12.8 | 13.2 | 14.4 | 12.4 |

NS= No significativo; HW = valores significativos ($\alpha = 0.00125$) para toda la tabla después de la corrección secuencial de Bonferroni en negritas

V.3. Descubrimiento de alelos

La gráfica que se presenta a continuación indica que el tamaño de muestra que se utilizó para este estudio ($2n = 100$ alelos en promedio por *locus*) fue suficiente para mostrar la diversidad alélica de toda la población, se observa que antes de llegar a nuestro tamaño real de colecta las curvas alcanzan su asíntota (Figura 5), cabe mencionar que por la capacidad del programa, el tamaño máximo de pruebas que se realizaron fue de $2n= 250$ y $2n= 300$ organismos dependiendo de la cantidad de alelos descubiertos.

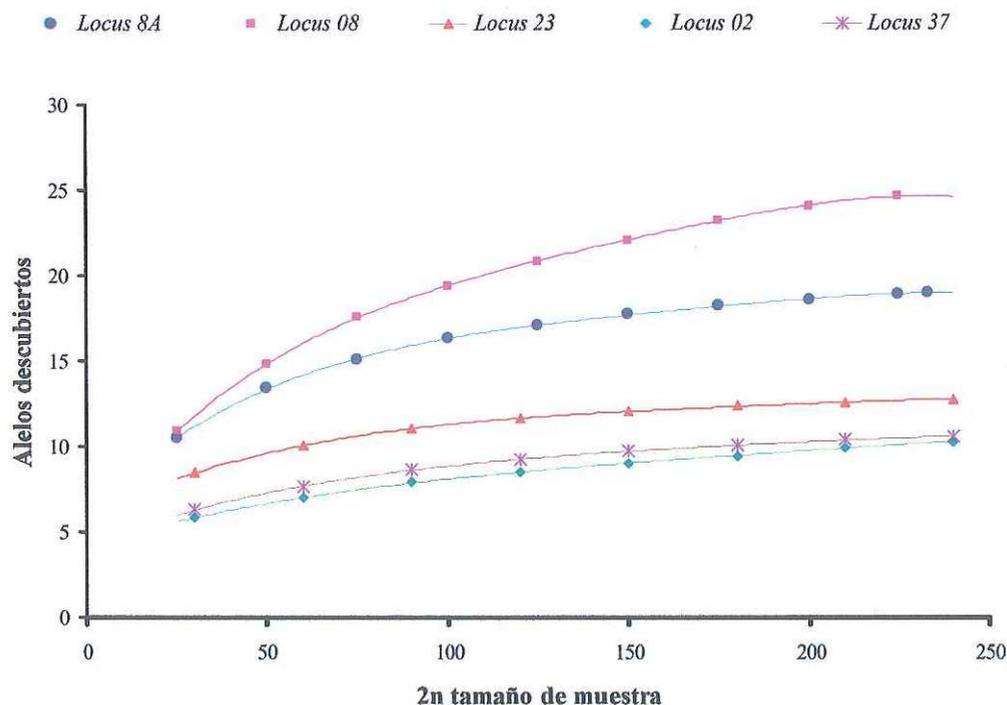


Figura 5. Descubrimiento de alelos en función del tamaño de alelos muestreados al azar

V.4. Estructura genética

Los análisis de variancia molecular con ambos índices de fijación reflejan una heterogeneidad genética global incipiente (menor a 1% de la variancia total) pero significativa ($F_{ST} = 0.0036$, $P = 0.001$ y $R_{ST} = 0.00941$, $P = 0.026$, Tabla V).

Tabla V. Análisis de variancia (F_{ST}) y análisis de variancia molecular (R_{ST}) de *Coryphaena hippurus* en ocho localidades del Pacífico mexicano a partir de cinco *loci* microsatelitales

| Ambos análisis | | F_{ST} | | | R_{ST} | | |
|-----------------------|-----------------|--|--------------------------|--------------|--|--------------------------|--------------|
| Fuente de variación | Grados libertad | Suma de cuadrados | Componentes de variancia | % variación | Suma de cuadrados | Componentes de variancia | % variación |
| Entre poblaciones | 7 | 19.314 | 0.00724 | 0.36 | 967.335 | 0.66415 | 0.94 |
| Dentro de poblaciones | 816 | 1644.353 | 2.01514 | 99.64 | 57058.454 | 69.9245 | 99.06 |
| TOTAL | 823 | 1666.367 | | | 58025.789 | 70.58872 | |
| | | $F_{ST}: 0.0036 P=0.001$ | | | $R_{ST}: 0.0094 P=0.026$ | | |

Los valores F_{ST} no mostraron ninguna diferencia significativa en las comparaciones pareadas después de Bonferroni (Tabla VI). Los valores R_{ST} en las comparaciones pareadas señalan diferenciación genética entre Sonora-Sinaloa ($R_{ST}=0.026^*$), Colima-Sinaloa ($R_{ST}=0.022^*$), Colima-Chiapas ($R_{ST} = 0.023^*$) Colima-BCS ($R_{ST} = 0.022^*$), Chiapas-Sinaloa ($R_{ST} = 0.034^{**}$), Chiapas-Jalisco ($R_{ST} = 0.021^*$) y Chiapas-Hawai ($R_{ST} = 0.029^*$), si bien la significancia de esas comparaciones desaparece al aplicar la corrección secuencial de Bonferroni por pruebas múltiples (Tabla VII), el cálculo de R_{ST} pareados corroboró la diferenciación que se presentó en los valores F_{ST} antes de la prueba secuencial de

Bonferroni. Algunas de estas comparaciones indica que Sinaloa, Colima y Chiapas, representaron las localidades más disímiles.

Tabla VI. Índices de fijación de las comparaciones pareadas. Valores F_{ST} debajo de la diagonal y su valor P de significancia arriba.

| F_{ST} | <i>Sonora</i> | <i>Sinaloa</i> | <i>BCS</i> | <i>Jalisco</i> | <i>Colima</i> | <i>Oaxaca</i> | <i>Chiapas</i> | <i>Hawai</i> |
|----------------|---------------|----------------|------------|----------------|---------------|---------------|----------------|--------------|
| <i>Sonora</i> | | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| <i>Sinaloa</i> | -0.001 | | NS | NS | 0.006 | NS | NS | NS |
| <i>BCS</i> | -0.002 | 0.004 | | 0.045 | 0.041 | NS | 0.037 | NS |
| <i>Jalisco</i> | 0.001 | -0.002 | 0.005 | | 0.031 | NS | NS | NS |
| <i>Colima</i> | 0.003 | 0.008 | 0.005 | 0.005 | | 0.003 | 0.005 | NS |
| <i>Oaxaca</i> | 0.001 | 0.003 | 0.002 | 0.005 | 0.009 | | NS | NS |
| <i>Chiapas</i> | 0.003 | 0.003 | 0.005 | 0.004 | 0.008 | 0.004 | | 0.027 |
| <i>Hawai</i> | 0.000 | 0.003 | 0.004 | 0.004 | 0.002 | 0.002 | 0.005 | |

NS = No significativo; $\alpha = 0.0018$ para toda la tabla con la corrección secuencial de Bonferroni

Tabla VII. Índices de fijación de las comparaciones pareadas de valores R_{ST} debajo de la diagonal y su valor P de significancia arriba.

| R_{ST} | <i>Sonora</i> | <i>Sinaloa</i> | <i>BCS</i> | <i>Jalisco</i> | <i>Colima</i> | <i>Oaxaca</i> | <i>Chiapas</i> | <i>Hawai</i> |
|----------------|---------------|----------------|--------------|----------------|---------------|---------------|----------------|--------------|
| <i>Sonora</i> | | 0.02519 | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| <i>Sinaloa</i> | 0.026 | | NS | NS | 0.0355 | NS | 0.0074 | NS |
| <i>BCS</i> | -0.002 | 0.010 | | NS | 0.0434 | NS | NS | NS |
| <i>Jalisco</i> | 0.010 | -0.002 | 0.006 | | NS | NS | 0.0340 | NS |
| <i>Colima</i> | 0.007 | 0.022 | 0.022 | 0.001 | | NS | 0.0350 | NS |
| <i>Oaxaca</i> | 0.001 | -0.002 | -0.004 | -0.004 | 0.010 | | NS | NS |
| <i>Chiapas</i> | -0.008 | 0.034 | 0.001 | 0.021 | 0.023 | 0.010 | | 0.0190 |
| <i>Hawai</i> | 0.016 | -0.009 | 0.003 | -0.004 | 0.017 | -0.006 | 0.029 | |

NS = No significativo; $\alpha = 0.0018$ para toda la tabla con la corrección secuencial de Bonferroni

La hipótesis nula de panmixia entre regiones geográficas no pudo ser rechazada al no encontrar ninguna diferenciación entre ellas (R_{CT} : 0.000023, $P = 0.49$, Tabla VIII).

Tabla VIII. Análisis de variancia molecular R_{ST} de cuatro grupos regionales a priori, Grupo 1 Norte (Sonora Sinaloa BCS) Grupo 2 Centro (Jalisco Colima) Grupo 3 Sur (Oaxaca Chiapas) y Grupo 4 (Hawai) prueba de significancia 20 mil permutaciones.

| <i>Fuente de variación</i> | <i>Componente de variancia</i> | <i>Porcentaje de variación</i> | <i>Índices de Fijación</i> | <i>Valor P</i> |
|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------|
| Entre grupos | 0.0011 | 0.00 | $R_{CT} : 0.000023$ | 0.4964 |
| Entre poblaciones dentro de grupos | 0.66323 | 0.94 | $R_{SC} : 0.00940$ | 0.0630 |
| Dentro de poblaciones | 69.92458 | 99.06 | $R_{ST} : 0.00941$ | 0.0239 |
| TOTAL | 70.58892 | | | |

Siguiendo los objetivos de esta investigación y para probar si los organismos de las localidades se diferencian conforme aumenta su distancia geográfica, se agruparon todas las localidades cercanas al continente y se compararon con la localidad más lejana (Hawai). Este análisis revela que no existe dicho patrón de diferenciación por distancia geográfica al no encontrar ningún porcentaje de variación entre ambos grupos ($R_{CT} : 0.00$, $P = 0.62252$) y refleja que una importante fracción de la variancia total (1.07%) ocurre entre las subpoblaciones dentro de los grupos ($R_{SC} : 0.0106$, $P = 0.02357$, Tabla IX), lo cual prueba que las poblaciones del continente presentan estructura genética entre ellas a pesar de su cercanía geográfica.

Tabla IX. Análisis de variancia molecular a priori para probar grupos por escalas de distancia, Grupo 1 todas las localidades continentales y Grupo 2 (Hawai) prueba de significancia 20 mil permutaciones.

| <i>Fuente de variación</i> | <i>Componente de variancia</i> | <i>Porcentaje de variación</i> | <i>Índices de Fijación</i> | <i>Valor P</i> |
|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------|
| Entre grupos | 0.00 | 0.00 | $R_{CT} : 0.00$ | 0.62252 |
| Entre poblaciones dentro de grupos | 0.75022 | 1.07 | $R_{SC} : \mathbf{0.0106}$ | 0.02357 |
| Dentro de poblaciones | 69.92458 | 99.43 | $R_{ST} : 0.0056$ | 0.02477 |
| TOTAL | 70.32236 | | | |

Finalmente, se efectuó un AMOVA adicional (R_{ST}) a posteriori para corroborar la diferenciación genética de Colima, Chiapas, Sinaloa y de (BCS, Sonora, Hawai, Oaxaca y Jalisco) que produjo un porcentaje de variación de 1.27% entre grupos, corroborando la diferenciación genética significativa entre estos grupos ($R_{CT} = 0.013$, $P = 0.015$). Este análisis también reflejó que las localidades del grupo cuatro no son del todo genéticamente homogéneas ya que una pequeña fracción de la variancia total (0.06%) resultó significativamente diferente de cero ($R_{SC} = 0.0007$, $P = 0.036$, Tabla X).

Tabla X. AMOVA de R_{ST} a posteriori, Grupo 1 Colima, Grupo 2 Chiapas, Grupo 3 Sinaloa y Grupo 4 (Sonora, BCS, Jalisco, Oaxaca y Hawai)

| <i>Fuente de variación</i> | <i>Componente de variancia</i> | <i>Porcentaje de variación</i> | <i>Índices de Fijación</i> | <i>Valor P</i> |
|------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------|
| Entre grupos | 0.89987 | 1.27 | $R_{CT} : 0.0133$ | 0.015 |
| Entre poblaciones dentro de grupos | 0.04562 | 0.06 | $R_{SC} : 0.0007$ | 0.036 |
| Dentro de poblaciones | 69.92458 | 98.67 | $R_{ST} : 0.0133$ | 0.024 |
| TOTAL | 70.87007 | | | |

V.5. Flujo genético entre poblaciones

Las estimaciones de los valores de Nm entre comparaciones pareadas de todas las localidades indican alto flujo genético entre ellas con un mínimo de 14 migrantes entre Chiapas y Sinaloa hasta valores infinitos en el resto de las localidades, los valores más bajos de Nm (14 a 23) coinciden con las comparaciones pareadas de las poblaciones más divergentes en valores R_{ST} , esto sugiere que el flujo genético entre Sonora-Sinaloa, Colima-Sinaloa, Colima-Chiapas, Colima-BCS, Chiapas-Sinaloa, Chiapas-Jalisco, Chiapas-Hawai puede estar limitado por algún factor (Tabla XI).

Tabla XI. Flujo genético entre poblaciones, determinada por el número de migrantes F_{ST} arriba de la diagonal y R_{ST} debajo de la diagonal

| Nm | Sonora | Sinaloa | BCS | Jalisco | Colima | Oaxaca | Chiapas | Hawai |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|----------|
| Sonora | | ∞ | ∞ | 394 | 199 | 889 | 150 | ∞ |
| Sinaloa | 19 | | 137 | ∞ | 62 | 149 | 189 | 143 |
| BCS | ∞ | 48 | | 92 | 100 | 307 | 108 | 120 |
| Jalisco | 48 | ∞ | 78 | | 92 | 107 | 128 | 126 |
| Colima | 69 | 22 | 22 | 337 | | 56 | 64 | 321 |
| Oaxaca | 550 | ∞ | ∞ | ∞ | 50 | | 119 | 230 |
| Chiapas | ∞ | 14 | 356 | 23 | 21 | 52 | | 91 |
| Hawai | 30 | ∞ | 163 | ∞ | 30 | ∞ | 17 | |

V.6. Aislamiento por distancia

El análisis de aislamiento por distancia no mostró ninguna correlación significativa (Figura 6) entre la distancia geográfica y el grado de diferenciación entre poblaciones.

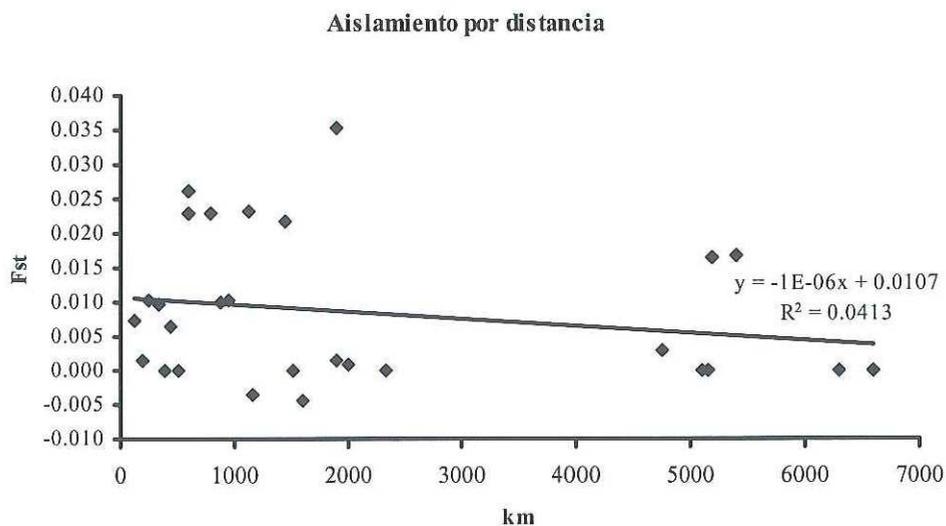


Figura 6. Correlación entre distancia geográfica y grado de diferenciación entre localidades

V.7. Patrones filogeográficos

El árbol Neighbor-joining que se construyó con los valores R_{ST} no mostró ningún patrón filogeográfico, con excepción de la agrupación de Sinaloa Sonora que son localidades geográficamente cercanas (Figura 7).

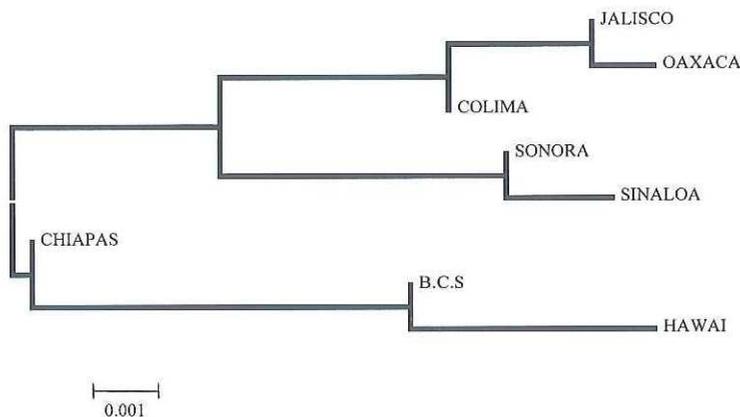


Figura 7. Árbol filogenético agrupa las localidades de acuerdo al grado de diferenciación genética con valores R_{ST}

El cladograma construido a partir de las frecuencias alélicas en cada localidad y resultado del consenso de 500 posibles árboles, agrupó en el 62% de las veces Colima y Jalisco (Figura 8), fuera de esta agrupación se considera que este árbol tiene baja resolución puesto que las demás agrupaciones no fueron consistentes en más del 50% de los remuestreos.

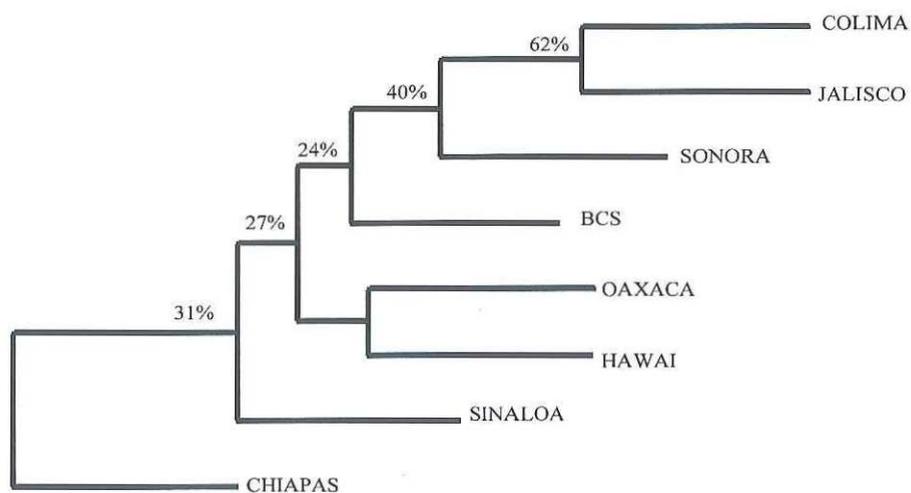


Figura 8. Árbol consenso de 500 árboles posibles a partir de alelos compartidos entre las localidades

VI. DISCUSIÓN

VI.1. Diversidad genética

El estudio de *Coryphaena hippurus* que aquí se presenta, indica que se contó con tamaños de muestra suficientes ($2n = 100$) para caracterizar la diversidad de los *loci* utilizados en las ocho localidades, puesto que las curvas de descubrimiento de alelos así lo refleja. De los cinco *loci* microsatelitales amplificados se descubrieron de 12 a 33 alelos por *locus*, mismos que se encuentran dentro del nivel de polimorfismo de otros *loci* microsatélites para otros pelágicos. Por ejemplo, el estudio de atún aleta amarilla con 5 *loci* polimórficos y con $n = 1391$ para todo el Pacífico reveló de siete a 30 alelos por *locus* (Appleyard *et al.*, 2001). En este estudio se observaron altas heterocigosidades para microsatélites respecto a microsatélites de otros pelágicos mayores, que variaron de 0.70 a 0.95 ($H_{\text{promedio}} = 0.825$). Appleyard *et al.* (2001) encontraron diversidades más variables de 0.223 a 0.955 (menores en promedio, $H_{\text{promedio}} = 0.586$) con cinco *loci* en ocho regiones más dispersas del Pacífico. También, Reeb *et al.* (2003) reportaron valores de 0.150 a 0.960 ($H_{\text{promedio}} = 0.530$) con ocho *loci* microsatelitales de pez espada en el Mar Mediterráneo y frente a Ecuador.

El análisis de heterogeneidad dentro de poblaciones indica que 11 de 40 pruebas (28%, Tabla IV) estuvieron fuera de equilibrio de Hardy-Weinberg. El déficit de heterocigosidad en organismos marinos con potencial de migración ya se ha observado y puede ser debido a la ausencia de barreras evidentes que pueden propiciar un efecto Wahlund. Carlsson *et al.* (2004) obtuvieron cuatro de los siete *loci* utilizados con déficit de

heterocigosidad en el estudio de atún aleta azul del Atlántico lo cual atribuyen a alelos nulos, es decir sería explicado por errores de muestreo y/o fallas en la amplificación de los genes. Sin embargo, este déficit podría evidenciar la existencia de algún factor que afecte la diversidad genética de las poblaciones (ej. endogamia, expansión poblacional, efecto Wahlund o selección de ciertos alelos) (Selkoe y Toonen, 2006). Existe la posibilidad de que algunos de los organismos heterocigotos sean considerados como homocigotos y demuestre un déficit de heterocigosidad erróneo. En esta situación los alelos nulos ocultos podrían causar un desvío en el equilibrio de HW. En general la heterocigosidad para todas las localidades fue alta, de éstas las menos diversas y con déficit de heterocigosidad significativos fueron Hawai y Oaxaca, en dos y tres de sus *loci*, respectivamente (Figura 9, Tabla IV), lo cual sugiere que, fuera de artefactos en la amplificación, posiblemente más de una población convergen en estas localidades (efecto Wahlund).

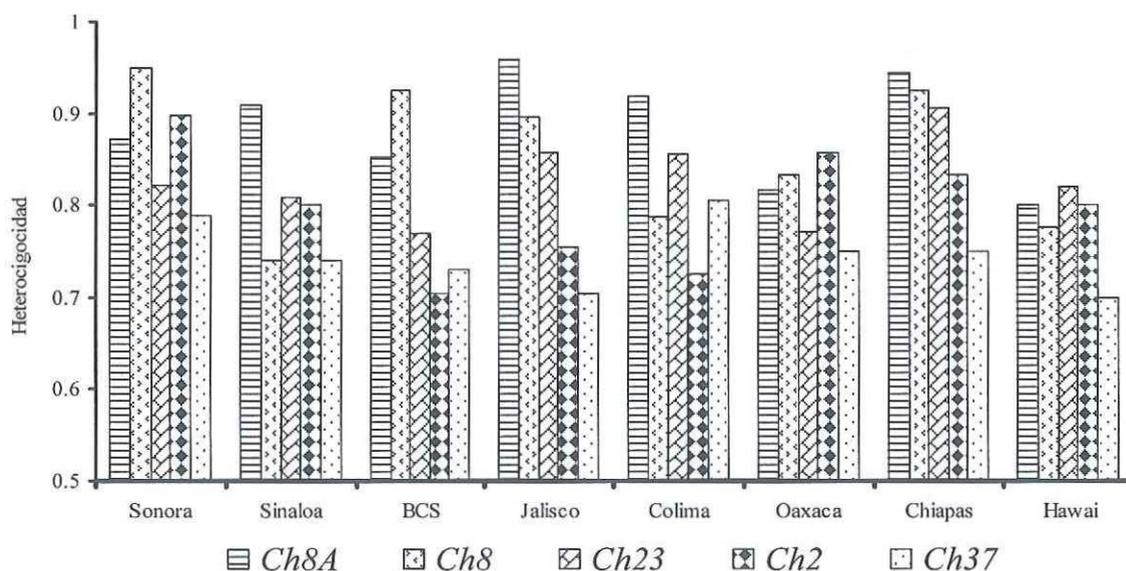


Figura 9. Heterocigosidad observada en cada *locus* y por localidad.

VI.2. Estructura genética y flujo genético

La heterogeneidad genética observada para el dorado entre todas las localidades de este estudio ($F_{ST} = 0.0036$, $P < 0.0001$; $R_{ST} = 0.00941$, $P = 0.026$) es consistente con la existencia de diferenciación previamente reportada en el ADN mitocondrial (gen NADH 1, $\Phi_{ST} = 0.029$ $P = 0.004$) con muestras sólo de BCS, Mazatlán y Hawai (Rocha-Olivares *et al.*, 2006). Aunque pequeños, los índices de diferenciación son significativos y están en el rango de valores que se ha reportado para ambos marcadores en otras especies de pelágicos similares al dorado. Por ejemplo, Carlsson *et al.* (2004) reportaron heterogeneidad en poblaciones del atún aleta azul en el Mar Mediterráneo con valores similares al de este trabajo ($F_{ST} = 0.0023$, $P = 0.038$ y $\Phi_{ST} = 0.023$ $P = <0.001$ para región control). La heterogeneidad genética que aquí se presenta es incipiente y discrepa lo reportado por Díaz-Jaimes *et al.* (2006) quienes sugirieron homogeneidad genética de las poblaciones de dorado en esta zona del Pacífico utilizando un gen mitocondrial. Esto podría explicarse porque los microsatélites poseen mayor resolución al ser altamente polimórficos y tener mayor tasa evolutiva que otros genes, lo cual permite ver diferencias en escalas espaciales y temporales menores (Ashley y Dow, 1994).

La diferenciación genética que devela este estudio sugiere la existencia de estructura poblacional entre las localidades de donde provienen las muestras de *C. hippurus*. Sin embargo, es importante mencionar que aún cuando los valores son significativos los índices son muy pequeños. Appleyard *et al.* (2001) y Uribe-Alcocer (2003) señalaron que en escalas geográficas diferentes, el atún aleta amarilla presenta en

general una población homogénea, y también refieren grados de heterogeneidad pequeños pero significativos ($F_{ST} = 0.048$, $P < 0.05$, con aloenzimas; $F_{ST} = 0.002$, $P = 0.001$ con nuclear). Asimismo, los estudios de *Xiphias gladius* que en general han probado la estructura genética de sus poblaciones reportan valores máximos de $F_{ST} = 0.177$, $P < 0.05$ (v.g.: Ching-Ping *et al.*, 2006) lo cual indica que en general para pelágicos mayores los valores de F_{ST} son pequeños, por lo que es recomendable interpretar con cautela estos resultados.

Los estudios de pelágicos mayores que han demostrado estructura en sus poblaciones son: *Thunnus thynnus thynnus*, (Carlsson *et al.* 2004) *Makaira nigricans* (Finnerty y Block, 1992; Buonaccorsi *et al.*, 1999), *Tetrapturus audax* (Graves y McDowell, 1994) *Istiophorus platypterus* (Hoolihan *et al.*, 2004) y *Xiphias gladius* (Rosel y Block, 1996; Chow *et al.*, 1997; Reeb *et al.*, 2000; Greig *et al.*, 2000) (Tabla XII). De los mencionados, los estudios de *T. thynnus* y *X. gladius* son comparables con éste por presentar divergencia poblacional en una escala menor a la predicha para especies con alto potencial de migración. En este estudio se presentó el mayor porcentaje de variación entre muestras de localidades separadas por una escala geográfica intermedia.

Tabla XII. Comparación de estudios de genética poblacional con distintos marcadores moleculares de especies con alto potencial de migración. Homogeneidad (=) heterogeneidad (≠). La escala geográfica del estudio refiere mayor (>) a comparación entre cuencas oceánicas y de mediana (<) la comparación de localidades dentro de una cuenca. AL (alozimas) MIT (ADN mitocondrial) NUC (ADN nuclear).

| Especie | AL | MIT | NUC | Escala | Evidencia | Estudio |
|--|---|---|-------------------------------------|--------|-----------|---------------------------------------|
| FAMILIA SCOMBRIDAE | | | | | | |
| Barrilete listado (<i>K. pelamis</i>) | * | * | | > | = | Fujino <i>et al.</i> (1981) |
| Barrilete listado (<i>K. pelamis</i>) | | * | | > | = | Graves <i>et al.</i> (1984) |
| Atún aleta azul sureño (<i>T. maccoyi</i>) | X ² y G _{ST} P>0.05 | X ² P=0.235 G _{ST} =0.138 | | > | = | Grewe <i>et al.</i> (1997) |
| Atún aleta azul (<i>T. thynnus</i>) | F _{ST} = 0.023 P=0.00 | | F _{ST} = 0.0023, P = 0.038 | < | ≠ | Carlsson <i>et al.</i> (2004) |
| Atún aleta amarilla (<i>T. albacares</i>) | | X ² P=0.58 | | > | = | Scoles y Graves (1993) |
| AAA (<i>T. albacares</i>) | | * | | > | = | Vieira <i>et al.</i> (2000) |
| AAA (<i>T. albacares</i>) | | * | | < | = | Chow <i>et al.</i> (2000) |
| AAA (<i>T. albacares</i>) | | | * | < | = | Nishida <i>et al.</i> (2001) |
| AAA (<i>T. albacares</i>) | | | F _{ST} =0.002, P=0.001 | > | = | Appleyard <i>et al.</i> (2001) |
| AAA (<i>T. albacares</i>) | F _{ST} =0.048; P<0.05 | | | < | = | Uribe-Alcocer (2003) |
| AAA (<i>T. albacares</i>) | | * | * | > | = | Talley-Farnham <i>et al.</i> (2004) |
| Atún patudo (<i>T. obesus</i>) | | * | | > | ≠ | Alvarado-Bremer <i>et al.</i> (1998) |
| Atún patudo (<i>T. obesus</i>) | | P<0.0001 | | > | ≠ | Chow <i>et al.</i> (2000) |
| FAMILIA ISTHIPHORIDAE | | | | | | |
| Marlin azul (<i>M. nigricans</i>) | | * | | > | ≠ | Finnerty y Block (1992) |
| Marlin azul (<i>M. nigricans</i>) | * | * | * | > | ≠ | Buonaccorsi <i>et al.</i> (1999) |
| Marlin azul (<i>M. nigricans</i>) | | * | * | < | = | Graves y McDowell (2001) |
| Marlin rayado (<i>T. audax</i>) | | X ² P<0.001 | | > | ≠ | Graves y McDowell (1994) |
| Pez Vela (<i>I. platypterus</i>) | | * | * | < | = | McDowell y Graves (2002) |
| Pez Vela (<i>I. platypterus</i>) | | * | | < | ≠ | Hoolihan, <i>et al.</i> (2004) |
| FAMILIA XIPHIIDAE | | | | | | |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | | * | | < | = | Grijalva-Chon <i>et al.</i> (1994) |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | | * | | > | ≠ | Alvarado-Bremer <i>et al.</i> (1995a) |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | | * | | > < | ≠ = | Kotoulas <i>et al.</i> (1995) |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | | * | | > | = | Alvarado-Bremer <i>et al.</i> (1995b) |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | | * | | > < | ≠ | Rosel y Block (1996) |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | | X ² , P<0.0001 | | > < | ≠ | Chow <i>et al.</i> (1997) |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | | F _{ST} =0.009; P=0.00624 | | > < | ≠ | Reeb <i>et al.</i> (2000) |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | | | * | < | ≠ | Greig <i>et al.</i> (2000) |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | * | | | < | = | Pujolar <i>et al.</i> (2002) |
| Pez espada (<i>X. gladius</i>) | | | | < | ≠ | Nohara <i>et al.</i> (2003) |
| Pez espada (<i>Xiphias gladius</i>) | | * | | < | ≠ | Ching-Ping Lu <i>et al.</i> (2006) |
| FAMILIA CORYPHENIDAE | | | | | | |
| Dorado (<i>Coryphaena hippurus</i>) | * | | | < | ≠ | Oxenford y Hunte (1986) |
| Dorado (<i>Coryphaena hippurus</i>) | | * | | > | ≠ | Herzig (1990) |
| Dorado (<i>Coryphaena hippurus</i>) | * | R _{ST} = 0.00941, P = 0.026 | | < | ≠ | Cimmaruta (1998) |
| Dorado (<i>Coryphaena hippurus</i>) | * | | | < | = | Pla y Pujolar (1999) |
| Dorado (<i>Coryphaena hippurus</i>) | | F _{ST} = 0.016 P=0.26 | | < | = | Díaz-Jaimes <i>et al.</i> (2006) |
| Dorado (<i>Coryphaena hippurus</i>) | | F _{ST} = 0.029 P=0.004 y F _{ST} =0.005 P=0.21 | | < | ≠ | Rocha-Olivares <i>et al.</i> (2006) |
| Dorado (<i>Coryphaena hippurus</i>) | | | R _{ST} =0.0094,P=0.026 | < | ≠ | Este estudio |

La ausencia de diferenciación entre Hawai y continente sugiere que los dorados en su etapa adulta migran en escalas de miles de kilómetros. Esto se intuye debido a que su etapa planctónica es lo suficientemente corta para limitar su tiempo a la deriva (Rocha-Olivares *et al.*, 2006). Kessler (2006) refiere que la velocidad de las corrientes en la zona del Pacífico Norecuatorial varía de 5 a 20 cm s^{-1} , por ello el máximo desplazamiento de las larvas y huevos por deriva en el mar no debe ser mayor a 430km, lo cual prueba que esta etapa no es factor para que ocurra flujo genético en escalas grandes de distancia. Kraul (1999) indica que la capacidad natatoria del dorado en su etapa adulta es de 10m s^{-1} , lo cual demuestra que tampoco las corrientes marinas limitan sus movimientos. En este sentido, se confirma lo dicho por Rocha-Olivares *et al.* (2006) que las corrientes oceánicas no tienen un papel preponderante en el flujo genético de las poblaciones.

La diferencia en las comparaciones pareadas entre algunas de las localidades cercanas al continente, son consistentes con la evidencia de divergencia que presentan Rocha-Olivares *et al.* (2006) en esta zona. Además que se reveló un porcentaje de variación de 1.27 al considerarlas como grupos en el AMOVA a posteriori ($R_{CT} = 0.013$, $P = 0.015$). Los valores de Nm indican altos niveles de flujo genético (desde 14 migrantes hasta valores infinitos). Como es de esperarse los valores de Nm más bajos coinciden con las comparaciones pareadas de las poblaciones más divergentes en valores R_{ST} , esto sugiere que el flujo genético entre estas localidades puede estar limitado por algún factor.

Las diferencias encontradas entre localidades pueden ser indicio de preferencia o fidelidad al sitio de desove, mecanismo que promueve la diferenciación genética (Graves y McDowell, 1994). Sin embargo, este estudio no es capaz de explicar los mecanismos que dan lugar a la heterogeneidad que presentó el dorado en localidades cercanas. Se sabe que

la dinámica oceanográfica del Pacífico Tropical es compleja a lo largo del año, lo cual puede generar condiciones ambientales preferenciales para las especies (Pennington *et al.*, 2006). Kingsford y Defries (1999) con datos de marcaje y recaptura sugieren hábitos hogareños de la especie, esta explicación no sería del todo cierta, si se considera la distancia entre Hawai y Continente donde no hubo diferencias. Cabe mencionar que su estudio fue en Australia donde es menor la dinámica oceanográfica comparada con la que caracteriza la zona del Pacífico tropical. Lavín *et al.* (2006) reconocen que el Pacífico Tropical cuenta con distintas zonas biogeográficas, resultado de giros ciclónicos y anticiclónicos que generan zonas productivas y oligotróficas. Por ejemplo, la concavidad de Tehuantepec donde la termoclina es más profunda en invierno y primavera, constituye una provincia biogeografía de mar abierto con una comunidad biológica distinta (Lavín *et al.* 2006). Estudios zoogeográficos han mostrado un ensamble de especies de zooplancton, que determina la presencia de diferentes cadenas tróficas y una asociación distintiva y prevalente entre especies de aves marinas, atunes, delfines que son característicos de regiones calidas (Lavín *et al.* 2006). Bajo este escenario, serían barreras oceanográficas las causantes de un aislamiento reproductivo para propiciar la diferenciación. Si a esta hipótesis se suma los requerimientos fisiológicos del dorado a lo largo de su ontogenia, entonces aspectos biológicos o ecológicos son probablemente los que dictan los patrones de estructura genética que presentó esta especie en las dos escalas de distancia.

VI.3. Patrones filogeográficos

Los árboles filogenéticos construidos en este trabajo, en ninguno de los casos reflejaron un patrón geográfico en las relaciones entre localidades. Se sabe que el dorado tiene esencialmente dos alternativas para dispersar sus genes 1) por dispersión de larvas y huevos por corrientes oceánicas y 2) por el desplazamiento de organismos adultos. La ausencia de patrones filogeográficos puede atribuirse a que todos los organismos que se incluyeron en este estudio fueron adultos, por lo que su procedencia no refleja necesariamente el sitio donde fueron originados. Consecuentemente, sería conveniente incluir etapas tempranas de vida en estudios posteriores, puesto que puede ser más probable que en ellas se refleje un patrón filogeográfico si provienen de grupos de desove con cierta filopatria reproductiva.

VI.4. Perspectivas de Manejo

La heterogeneidad genética del dorado que develó este estudio, indica que en el litoral mexicano las poblaciones no pueden ser vistas como un stock homogéneo, por consiguiente es necesario hacer estudios sobre dinámica poblacional para conocer las tasas de reclutamiento y proponer cuotas de captura por regiones sostenible tomado en cuenta la heterogeneidad que se presentó en la zona del Pacífico Mexicano.

Por otra parte, la falta de diferenciación que presentó Hawai con las poblaciones de territorio mexicano nos dice que este recurso está siendo compartido por ambos países, por ello se sugiere que se emitan acuerdos internacionales para establecer cuotas de captura que beneficien de manera equitativa a los países involucrados (Mahon y Oxenford, 1999) y

que de esta manera la suma de estas cuotas, no excedan los niveles de explotación sustentable, no se podría manejar independientemente una de otra ya que la tasa de aprovechamiento por localidad, repercutiría a nivel global.

VII. CONCLUSIONES

- En este estudio se presenta evidencia de heterogeneidad genética del dorado pequeña pero significativa en escalas de cientos de kilómetros.
- Indica ausencia de diferenciación de la población en escalas de miles de kilómetros y de un patrón de aislamiento por distancia
- Este estudio es consistente con estudios realizados en el Pacífico mexicano donde se utilizó ADN mitocondrial.
- Este estudio sienta las bases para investigar los mecanismos responsables de la heterogeneidad del dorado encontrada en el Pacífico mexicano.
- De los resultados de esta investigación pueden surgir nuevas hipótesis para probar si la heterogeneidad encontrada en este estudio responde a herramientas biológicas-pesqueras.

VIII. LITERATURA CITADA

- Aijanabi, S. M. y I. Martínez. 1997. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 22:4692-4693.
- Allendorf, W. F., N. Ryman y M. F. Utter. 1987. Genetics and Fishery management *past, present and future*. En: Ryman, N., y F. M. Utter. (eds.). Population genetics and fishery management. University of Washington, Seattle, Washington. 1-20pp.
- Alvarado-Bremer, J. R., A. J. Baker y J. Mejuto. 1995. Mitochondrial DNA control region sequences indicate extensive mixing of swordfish (*Xiphias gladius*) populations in the Atlantic Ocean. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52(8):1720-1732.
- Alvarado-Bremer, J. R., J. Mejuto, T.W. Greig, B. Ely. 1996. Global population structure of the swordfish (*Xiphias gladius*) as revealed by the analysis of the mitochondrial control region. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 197(2):295-310.
- Alvarado-Bremer, J. R., B. Stequert, N. W. Robertson y B. Ely. 1998. Genetic evidence for inter-oceanic subdivision of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) populations. *Marine Biology* 132:547-557.
- Appleyard S. A., P. M Grewe, B. H., Innes, R. D. Ward. 2001. Population structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the western Pacific Ocean, inferred from microsatellite *loci*. *Marine Biology* 139:383-393.
- Ashley, M. V. y B. D. Dow, 1994. The use of microsatellite analysis in population biology: Background, methods and potential applications. En: Schierwater, B. Streit, B. G. P. Wager R. Deisake (eds.). *Molecular ecology and evolution: Approaches and applications* 185-201pp.

- Avise, J. C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, New York, N. Y. 511pp.
- Benetti, D. D., R. W. Brill, S. A. Kraul, J. R. 1995. The standard metabolic rate of dolphin fish. *Journal of Fish Biology* 46(6):987-996.
- Bohonak, A. J. 2002. IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity* 93:153-154.
- Briggs, J. C. 1960. Fishes of worldwide (circumtropical) distribution. *Copeia* 3:171-180.
- Buonaccorsi, V. P., K. S. Reece, L. W. Morgan, y J. E. Graves. 1999. Geographic distribution of molecular variance within the blue marlin (*Makaira nigricans*): A hierarchical analysis of allozyme, single-copy nuclear DNA, and mitochondrial DNA markers. *Evolution* 53:568-579.
- Carlsson J., J. R. McDowell, P. Díaz-Jaimez, J. E. L. Carlsson, S. B. Boles, J. R. Gold y J. E. Graves. 2004. Microsatellite and mitochondrial DNA analyses of Atlanta bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology* 13:3345-3356.
- Castro, G. S., y R. C. Gómez. 1991. Variación estacional de la abundancia relativa y composición por tallas del dorado (*Coryphaena hippurus*) y su relación con la temperatura superficial del mar en Cabo San Lucas. B.C.S. durante 1990. Informe Interno. CRIP La Paz. B.C.S. INP-SEPESCA 62pp.
- Ching-Ping, L., A. C., C. Allen Chen., H. Cho-Fat., T. Tzong-Der, Y. Shean-Ya, 2006. Population genetic structure of the swordfish, *Xiphias gladius* (Linnaeus, 1758). En: *The Indian Ocean and West Pacific Inferred from the Complete DNA Sequence of the Mitochondrial Control Region*. *Zoological Studies* 45(2):269-279.
- Chow, S., H. Okamoto, Y. Uozumi, Y. Takeuchi y H. Takeyama. 1997. Genetic stock structure of the swordfish (*Xiphias gladius*) inferred by PCR-RFLP analysis of the mitochondrial DNA control region. *Marine Biology* 127(3):359-367.

- Chow, N., K. Hazama, T. Nishida, S. Ikame, S. Kurihara. 2000. A preliminary genetic analysis on yellowfin tuna stock structure in the Indian Ocean using mitochondrial DNA variation, IOTC Proceedings 3:312-316.
- Chow, S., H. Okamoto, N. Miyabe, K. Hiramatsu y N. Barut. 2000. Genetic divergence between Atlantic and Indo-Pacific stock of bigeye tuna *Thunnus obesus* y admixture around South Africa. *Molecular Ecology* 9:221-227.
- Cimmaruta, R., M. Iaconelli, G. Nascetti, L. Bullini. 1998. Genetic diversity in Mediterranean large pelagic fish populations. *Biología Marina Mediterranea* 5(3): 300-310.
- Díaz-Jaimes, P y Uribe-Alcocer. 2002. Evaluación de la presencia de estructura poblacional de Atún Aleta Amarilla (*Thunnus albacares*) en el Pacífico Nororiental. Resumen en: EL VIGIA Órgano Informativo del Programa Nacional de Aprovechamiento del Atún y de Protección a Delfines 7(14):13-17.
- Díaz-Jaimes, P. M. Uribe-Alcocer, S. Ortega-García, J. Dominique-Durand. 2006. Spatial and temporal mitochondrial DNA genetic homogeneity of dolphinfish populations (*Coryphaena hippurus*) in the eastern central Pacific. *Fisheries Research* 80:333-338.
- D.O.F. 1995. Publica la Norma Oficial Mexicana (NOM-017-PESC-1994). Para regulación de las actividades de pesca deportivo recreativa en las aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos. México D. F
- Eschmeyer, W. N. y E. S. Herald. 1983. A field guide to Pacific coast fishes North America. R. T. Peterson (eds.). Houghton Mifflin Company 336pp.
- Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S. 2005. Arlequin: An integrated software package for population genetic data analysis. (Versión 3.1). Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG). Berna, Suiza.
- Farnham T., .T. C; Stequert, B. Alvarado Bremer, J. R. 2004. Preliminary analysis of the comparison in levels of variation between juvenile and adult yellowfin tuna samples from the Atlantic Ocean using both mtDNA and microsatellite data. Colección

- Documentos Científicos. Comisión internacional para la Conservación del Atún Atlántico 56(2):694-703.
- Felsenstein, J. 2006. Phylogeny Inference Package 3.66 (Phylip). Department of Genome Sciences and Department of Biology University of Washington. Seattle, WA 8195-7730 USA.
- Finnerty, J. R., y B. A. Block. 1992. Direct sequencing of mitochondrial DNA detects highly divergent haplotypes in blue marlin (*Makaira nigricans*). *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 1:206-214.
- Fujino, K., K. Sasaki, S. Okumura, 1981. Genetic diversity of skipjack tuna in the Atlantic, Indian and Pacific Oceans. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 47(2):215-222.
- Gaceta parlamentaria, 23 de junio 2004. Iniciativa que reforma el segundo párrafo del artículo 13 de la ley de pesca. 14 de diciembre 2001. (<http://www.senado.gob.mx/>).
- García Melgar, C. G. 1995. Ciclo de reproducción del dorado *Coryphaena hippurus*. Linnaeus 1758. (Pisces: Coryphaenidae) en el área de Los Cabos, B.C.S. Tesis Licenciatura UABCS 62.
- Gibbs, R., y B. Collette. 1959. On the identification, distribution and biology of the Dolphins *Coryphaena hippurus* and *C. equiselis*. *Bulletin of Marine Science* 9:117-152.
- Graves, J. E. 1998. Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes. *Journal of Heredity* 89(5):427-437.
- Graves, J. E., S. D. Ferris y A. E. Dizon. 1984. Close genetic similarity of Atlantic and Pacific skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) demonstrated with restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. *Marine Biology* 79:315-319.

- Graves, J. E. y J. R. McDowell. 1994. Genetic analysis of striped marlin (*Tetrapturus audax*) population structure in the Pacific Ocean. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51:1762-1768.
- Graves, J. E y J. R. McDowell. 2001. A genetic perspective on the stock structures of blue marlin and white marlin in the Atlantic Ocean. *Colección de Documentos Científicos. Comisión internacional para la Conservación del Atún Atlántico* 53:180-187.
- Greig, T. W., J. R. Alvarado-Bremer y B. Ely. 2000. Nuclear markers provide additional evidence for population subdivision among Atlantic swordfish. *Colección Documentos Científicos. Comisión internacional para la Conservación del Atún Atlántico* 51(1):1637-1641.
- Grijalva-Chon, J. M., K. Numachi, O. Sosa-Nishizaki y J. De la Rosa Velez, 1994. Mitochondrial DNA analysis of North Pacific swordfish *Xiphias gladius* population structure. *Marine Ecology-Progress Series* 115(1-2):15-19.
- Guo, S. y E. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48:361-372.
- Hedrick, P. W. 2000. *Genetics of populations*. Segunda edición. Jones y Bartlett (eds.). Boston, USA. 545pp.
- Herzig, C. E. 1990. Mitochondrial DNA used to track the dispersal of a preferred menu item in Waikiki restaurants: Mahi mahi as an example of genetic tagging with mtDNA. *Pacific Science* 44(2):186-187.
- Hoolihan, J. P., J. Premanandh, M. A. D'Aloia-Palmieri y J. A. H. Benzie. 2004. Intraspecific phylogeographic isolation of Arabian Gulf sailfish *Istiophorus platypterus* inferred from mitochondrial DNA. *Marine Biology* 145(3):465-475.
- Kessler, W. S. 2006. The circulation of the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69:181-217.

- Kingsford M. J., Defries, A. 1999. The ecology of and fishery for *Coryphaena* spp. in the waters around Australia and New Zealand. *Sciences Marine* 63(3-4): 267-275.
- Kocher, T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V. Edwards, S. Pääbo, F. X. Villablanca, y A. C. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 86:6196-6200.
- Kotoulas, G. A. Magoulas, N. Tsimenides y E. Zouros. 1995. Marked mitochondrial DNA differences between Mediterranean and Atlantic populations of the swordfish, *Xiphias gladius*. *Molecular Ecology* 4(4):473-481.
- Kraul, S. 1999. Seasonal abundance of the dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, in Hawaii and the tropical Pacific Ocean. *Scientia Marina* 63(3-4):261-266.
- Kumar, S., K. Tamura, y M. Nei. 2004. MEGA 3.1. Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.
- Lavín M.F., P. C. Fiedler, J. A. Amador, L. T. Ballance, J. Farber-Lorda, A. M. Mestas-Nuñez. 2006. A review of eastern tropical Pacific oceanography: Summary. *Progress in Oceanography* 69:391-398
- Lee, W. J., J. Conroy, W. H. Howell, y T. D. Kocher. 1995. Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. *Journal of Molecular Evolution* 41:54-66.
- Madrid, J .V. y Beltran-Pimienta, R. 2001. Longitud, peso y sexo del dorado *Coryphaena hippurus* (Perciformes: Coryphaenidae), del litoral de Sinaloa, Nayarit y Baja California Sur, México. *Revista de Biología Tropical* 49(3-4):931-938.
- Mahon, R., y H. A. Oxenford. 1999. Precautionary assessment and management of dolphinfish in the Caribbean. *Scientia Marina* 62:429-438.

- Massutí, E. y B. Morales-Nin. 1995. Seasonality and reproduction of dolphin-fish (*Coryphaena hippurus*) in the Western Mediterranean. *Scientia Marina* 59:357-364.
- McDowell, J. R y J. E. Graves 2002. A genetic perspective on Atlantic sailfish stock structure. Colección de documentos científicos. Comisión internacional para la Conservación del Atún Atlántico 54(3):805-810.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, N.Y. 512 pp.
- Nishida, T., S. Chow, S. Ikame, S. Kurihara. 2001. RFLP analysis on single copy nuclear gene loci in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) to examine the genetic differentiation between the western and eastern samples from the Indian Ocean. *IOTC Proceedings* 4:437-441.
- Nohara, K., H. Okamoto, M. Nakadate, K. Hiramatsu, N. Suzuki, M. Okazaki y S. Chow. 2003. Biological investigation on two types of bill internal structure of swordfish (*Xiphias gladius*) and genetic differentiation between the North and South Atlantic stocks. *Bulletin of Fisheries Research Agency* 7:1-13
- Norton, J. G . 1999. Apparent habitat extension of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in response to climate transient in the California Current. *En: E. Massutí y B. Morales-Nin (eds.). Biology and fisheries of dolphinfish and related species. Scientia Marina* 63(3-4):239-260.
- Oxenford, H. A. 1999. Biology of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the western Central Atlantic: a review. *Scientia Marina* 63:277-301.
- Oxenford, H. A. y W. Hunte. 1986. A preliminary investigation of stock structure of the dolphin *Coryphaena hippurus* in the Western Central Atlantic. *Fishery Bulletin* 84: 451-460.

- Palko, B., G. Beardsley, y W. Richards. 1982. Synopsis of the biological data on dolphin-fishes, *Coryphaena hippurus* Linnaeus and *Coryphaena equiselis* Linnaeus. NOAA Technical Report NMFS Circular 443. 27pp
- Palumbi, S. R. 1996. Macrospatial genetic structure and speciation in marine taxa with high dispersal abilities. En: J. D. Ferraris, y S. R. Palumbi. (eds.). Molecular zoology: Advances, strategies, and protocols; Symposium held during Annual Meeting of the American Society of Zoologists. Wiley-Liss Inc., New York, N.Y. 101-117pp.
- Pella, J. J. y Milner, B. G. 1987. Use of genetic marks in stock composition analysis. En: N. Ryman, N., y F. M. Utter. (eds.). Population genetics and fishery management. University of Washington Press, Seattle, Washington 247-276pp.
- Pennington, J. M., K. L. Mahoney, V. S. Kuwahara, D. D. Kolber, R. Calienes, F. P. Chavez. 2006. Primary production in the eastern tropical Pacific: A review. Progress in Oceanography 69:285-317.
- Pla, C. y J. M. Pujolar. 1999. Genetic homogeneity of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the western Mediterranean and the eastern Atlantic. Scientia Marina 63(3-4): 337-341.
- Pujolar, J. M., M. I. Roldan y C. Pla, 2002. A genetic assessment of the population structure of swordfish in the Mediterranean Sea. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 276(1-2):19-29.
- Raymond M. y F. Rousset. 1995. GENEPOP (Versión 3.4) population exact test and ecumenicism. Journal of Heredity 86:248-249.
- Reeb, C. A., L. Arcangeli, y B. A. Block. 2000. Structure and migration corridors in Pacific populations of the Swordfish *Xiphias gladius*, as inferred through analyses of mitochondrial DNA. Marine Biology. 136(6):1123-1131.
- Reeb, C. A., Arcangeli, L. Block, B. A. 2003. Development of 11 microsatellite loci for population studies in the swordfish, *Xiphias gladius* (Teleostei: Scombridae). Molecular Ecology Notes. 1(3):147-149.

- Rocha-Olivares, A., M. Bobadilla-Jiménez, S. Ortega-García, N. Saavedra-Sotelo y J. R. Sandoval-Castillo. 2006. Variabilidad mitocondrial del dorado *Coryphaena hippurus* en poblaciones del Pacífico. *Ciencias Marinas* 32(3):569-578.
- Rosel, P. E. y B. A. Block. 1996. Mitochondrial control region variability and global population structure in the swordfish, *Xiphias gladius*. *Marine Biology* 125:11-22.
- Selkoe, K. A. y R. J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers *Ecology Letters* 9(5):615-629.
- Scoles, D. R. y J. E. Graves. 1993. Genetic analysis of the population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from the Pacific Ocean. *Fishery Bulletin* 91:690-698.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236:787-792.
- Slatkin, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47(1): 264-279.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139(1):457-462.
- Trasviña, C. A. 1991. Offshore wind forcing in the coastal ocean: Observations and modeling of the Gulf of Tehuantepec, México. Tesis de Doctorado. C.I.C.E.S.E. 88pp.
- Uribe-Alcocer, M. 2003. Allozyme and RAPD variation in the eastern Pacific yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Fishery Bulletin*. 101(4):769-777.
- Vieira, V. L., A.C. A El-Deir, M. A. A. Furtado-Neto, S.M. Carr. 2000. Genetic analysis of the stock structure of the yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, in the Southwest Equatorial Atlantic Ocean as suggested by mitochondrial DNA sequences. *Arquivos de Ciências do Mar*. 33:119-126.

- Weir, B. S. 1996. Genetic Data Analysis II. Methods for Discrete Population Genetic Data. Sunderland, MA, USA, Sinauer Associates, Inc. 445pp.
- Weir, B. S. y C. C. Cockerham. 1984. Estimating F -statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6):1358-1370.
- Wingrove, R. 1999. Population structure of dolphin, *Coryphaena hippurus* L. 1758, in the west central Atlantic, eastern Caribbean Sea, and Gulf of Mexico inferred from mitochondrial DNA variation. Thesis in University of Charleston Grice Marine Biological Laboratory. 1997-1998.
- Wyrtki, K., 1965. Surface currents of the eastern tropical Pacific ocean. Inter-American Tropical Tuna Commission Bulletin 9:271-304.

IX. APÉNDICE I

A continuación se presenta una breve descripción de algunos estudios de genética poblacional de pelágicos mayores con alto potencial de migración, los cuales utilizaron marcadores moleculares de distintas resoluciones.

IX.1. FAMILIA SCOMBRIDAE

IX.1.1. Barrilete listado (*Katsuwonus pelamis*)

Fujino *et al.* (1981) hicieron una comparación genética de Barrilete listado (*Katsuwonus pelamis*) entre Océano Atlántico, India y Pacífico con electroforesis de proteínas. Sus resultados indican que los organismos de la India son distintos a los del Pacífico y Atlántico, sugieren que estos se originaron en la India y algunos individuos migraron a otros océanos y después de aislamiento reproductivo se diversificaron genéticamente dentro de poblaciones geográficas (Atlántico, India, oeste del Pacífico y Este-central del Pacífico). En 1997 este autor después de probar que las poblaciones de Atlántico, India y Pacífico eran genéticamente distintas con datos de captura infirió rutas migratorias y estaciones de apareamiento para definir esas subpoblaciones. Concluyen que el archipiélago juega un papel importante para trazar rutas de migración, pero que es necesario entender características ecológicas y otros mecanismos relacionados para poder discutirlo.

Graves *et al.* (1984) con Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLPs) de ADN mitocondrial (ADNmit) analizaron barrilete listado de Océanos Atlántico y Pacífico. Sus resultados indican una sorprendente similitud genética

entre las poblaciones de los dos océanos, lo cual confirmó estudios previos de morfología y electroforesis.

IX.1.2. Atún aleta azul sureño (*Thunnus maccoyi*)

Grewe *et al.* (1997) no encontraron diferencias genéticas entre muestras de Atún aleta azul, al sur de África y del oeste al sur de Australia, incluyendo Tasmania, ellos comprobaron la homogeneidad de estas localidades usando 6 loci polimórficos de alozimas y tres enzimas de restricción en el análisis de ADNmit.

IX.1.3. Atún Aleta Amarilla (*Thunnus albacares*)

El Atún aleta amarilla (AAA) ha sido objeto de diversos estudios para reconocer unidades de pesca, debido a que algunos autores lo consideran un solo stock de distribución continua (Graves, 1998) y otros sugieren la posible existencia de dos stocks, separados por la convergencia de corrientes (Díaz-Jaimes y Uribe-Alcocer, 2002). Esta disyuntiva complica si las poblaciones deban manejarse como un sólo stock a nivel global o como dos stock independientes.

Por su parte, Scoles y Graves (1993) utilizaron RFLPs para el análisis de ADNmit de muestras de (AAA) de 5 localidades del Océano Pacífico y una del Atlántico, ellos mencionan que a pesar de los altos niveles de variación, no es suficiente evidencia para la diferenciación genética entre las muestra de los 6 sitios, ya que presentaron genotipos comunes con las mismas frecuencias en todas las localidades, exceptuando uno, por lo que

concluyen que el flujo genético dentro del océano Pacífico así como entre Océanos Pacífico y Atlántico no es suficiente como para evitar una diferenciación genética significativa.

Vieira *et al.* (2000) realizaron un análisis genético a (AAA) del Suroeste de Océano Atlántico con secuencias de ADNmit del gen citocromo b (citb) de 35 organismos, con el cual sugieren que los atunes del suroeste del Atlántico (Brasil) deberían considerarse como un stock único.

Chow *et al.* (2000) realizaron un análisis preliminar del stock de *Thunnus albacares* (AAA) del Océano de la India con ADNmit, con el fin de determinar la existencia de 2 o más stock. Analizaron 996 individuos tomados de Este y Oeste de la India. Sus resultados revelaron homogeneidad, sin embargo, sugieren que quizá el marcador de ADNmit no sea adecuado para revelar heterogeneidad. Así que un año más tarde estos mismos autores (Nishida *et al.*, 2001) en las mismas localidades analizaron con RFLPs loci nucleares para ver si este marcador si revelaba heterogeneidad. Concluyen que tampoco este marcador reveló diferencias genéticas significativas entre stocks del Este y el Oeste del Océano Índico a pesar de que sí observaron pocas diferencias morfométricas entre ellas lo cual sugiere plasticidad fenotípica.

Appleyard *et al.* (2001) examinaron 1391 individuos de (AAA) de 8 regiones del Océano Pacífico, al Oeste (Mar Coral, este de Australia, Fiji, Indonesia, Filipinas e Islas Salomón) y al Este de Océano Pacífico (California y México). Con cinco loci microsatelitales encontraron homogeneidad en las poblaciones lo cual concuerda con estudios previos de alozimas y ADNmit.

Uribe-Alcocer (2003) analizó 4 loci con alozimas y RAPDs de AAA de 10 sitios del Pacífico Este y Golfo de California representado por 20-30 individuos cada una. Concluye que la relación genética entre muestras no corresponde a un aislamiento por distancia para cualquiera de los marcadores y que sus resultados son consistentes con la hipótesis de un simple stock de AAA.

Farnham *et al.* (2004) analizaron juveniles de AAA del Golfo de Guinea y adultos del Golfo de México y en ambos casos utilizaron ADNmit y microsatélites. Determinaron que con la región control del ADNmit la diversidad nucleotídica y haplotípica fue extremadamente alta en ambas muestras y no fueron significativamente diferentes. Sus análisis estadísticos y el mismo esfuerzo de muestreo sugieren que estos juveniles comparten los mismo haplotipos de la misma madre y mismo evento de desove. Los microsatelitales revelaron que no hay diferencias significativas en niveles de heterocigosidad o frecuencias alélicas entre muestras de adultos y juveniles. Estos resultados soportan la panmixia de AAA en el Atlántico. Sin embargo, comparando con estudios preliminares que usaron los mismos marcadores en el Pacífico, este puede ser la primera evidencia de diferenciación genética entre poblaciones de AAA del Atlántico y Pacífico.

IX.1.4. Atún patudo (*Thunnus obesus*)

A diferencia de atún aleta amarilla, sí se ha reportado estructura en poblaciones del atún Patudo (*Thunnus obesus*). Alvarado-Bremer *et al.* (1998) encontraron evidencia genética de subdivisión inter-oceánica de poblaciones de patudo con el análisis de la región

control del ADNmit a través de RFLPs con tres enzimas de restricción. De un total de 248 individuos encontraron 13 haplotipos compuestos. El análisis filogenético demostró 2 clados monofiléticos y el análisis de frecuencias alélicas demostró que las muestras de patudo del Atlántico son genéticamente distintas de las del Pacífico e Índico. Por lo cual rechazaron la hipótesis nula de una misma población global.

Chow *et al.* (2000) también encontraron estructura en poblaciones de *Thunnus obesus*, ellos hicieron un extenso trabajo entre Océanos Atlántico, Índico-Pacífico y al sur de África para delimitar cómo se estructuran estas poblaciones. Utilizaron como marcadores dos segmentos de ADNmit y los analizaron con RFLPs, la variación de los dos genes fue baja, ya que sólo 2 genotipos, α y β fueron detectados con la enzima de restricción *Rsa* I, sin embargo, sí hubo una gran diferencia en la distribución genotípica entre océanos, revelado por el tipo α que predominó en 4 de las localidades del Atlántico. La variación encontrada en la región control del ADNmit fue muy alta, detectada por dos enzimas de restricción (*Dpn* II y *Rsa* I) que descubrió 5 genotipos cada enzima y 15 genotipos compuestos. Lo cual reflejó una diferencia significativa de frecuencias genotípicas entre muestras del Atlántico y muestras del Índico-Pacífico. Además se observó homogeneidad dentro de cada océano. Estos resultados sugieren que la migración está restringida entre Atlántico e Índico-Pacífico y que los peces de estos stocks eventualmente convergen alrededor del sur de África.

IX.2. FAMILIA ISTHIPHORIDAE

IX.2.1. Marlin azul (*Makaira nigricans*)

Finnerty y Block (1992) encontraron considerable variación intraespecífica en el Marlin azul (*Makaira nigricans*) reflejada por 7 genotipos del fragmento amplificado de *citb* del ADNmit. Con un análisis cladístico de las variantes de citocromo *b* revelaron dos líneas evolutivas de Marlin azul, que se diferencian notoriamente entre las cuencas del Océano Atlántico y Pacífico. Esto es relevante ya que el Marlin azul del Atlántico está considerado en peligro, por la pérdida de ciertos haplotipos debido a sobrepesca, sin embargo, se piensa que la migración de los Marlin del Pacífico puede ayudar a mantener las poblaciones del Atlántico no obstante esta afluencia podría ser contraproducente para las mismas poblaciones del Pacífico.

Buonaccorsi *et al.* (1999) presentaron un análisis de variación genética en poblaciones de *Makaira nigricans* aplicando jerárquicamente tres marcadores moleculares. Las muestras fueron tomadas dentro y entre los Océanos Atlántico y Pacífico durante varios años. Sus resultados indican que ADN nuclear y alozimas revelaron niveles similares de variación en muestras del Atlántico y Pacífico, sin embargo comparando estos marcadores con el ADNmit, el grado de divergencia y variación interoceánica fue menor que el revelado por el ADNmit.

IX.2.2. Marlin rayado (*Tetrapturus audax*)

Graves y McDowell (1994) revelaron estructura genética en poblaciones de Marlin rayado (*Tetrapturus audax*) de 4 localidades del Pacífico (México, Ecuador, Hawai y Australia) con el análisis de ADNmit empleando 11 enzimas de restricción el cual reveló haplotipos compuestos provenientes de 40 organismos de cada localidad. Varios haplotipos ocurrieron en elevadas frecuencias en colecciones simples o combinadas (Pacífico Este, Pacífico Oeste y Central). Los altos niveles de diferenciación dentro de las muestras, demostraron diferenciación genética significativa entre zonas geográficas, exceptuando México y Ecuador así como Hawai y Ecuador.

IX.2.3. Pez Vela (*Istiophorus platypterus*)

McDowell y Graves (2002) revelaron homogeneidad en poblaciones de *Istiophorus platypterus* de 6 localidades del Atlántico, usando como marcador molecular la región control del ADNmit y tres loci nucleares microsatelitales en 293 individuos. Su hipótesis nula de que las muestras fueron tomadas de un mismo reservorio genético podría no rechazarse sólo cuando cada análisis fuera de mediana escala para cada una de las zonas. Con este estudio se corrobora reportes previos que sugieren homogeneidad, en la distribución de Pez vela a través del Atlántico.

Hoolihan *et al.* (2004) en el Golfo de Arabia analizaron 7 poblaciones de Pez Vela representado por tres localidades dentro y cuatro fuera del Golfo. El análisis de estructura lo determinaron empleando 8 endonucleasas en ADNmit de 147 individuos. El AMOVA reveló diferencias significativas entre poblaciones dentro y fuera del Golfo y se corroboró

la diferenciación con el número de migrantes entre ellas. Este estudio representa una clara evidencia de aislamiento filogeográfico del Pez Vela el cual es altamente migratorio.

Graves y McDowell (2001) para conocer la estructura genética de Marlin azul (*Makaira nigricans*) y Marlin blanco (*Tetrapturus albidus*) dentro del Océano Atlántico usaron ADNmit, copias simples nucleares (csn) y ADN microsatelital. Los niveles de variación fueron diferentes entre especies y entre marcadores. En general la variación fue alta en microsatélites y ADNmit y con csn fueron menos variables pero si suficientemente variables para el análisis de estructura poblacional. No se detectó heterogeneidad significativa en distribuciones alélicas entre localidades de ambas especies con ninguno de los marcadores. El AMOVA indicó que la variación entre localidades fue insignificante dentro del Atlántico y esencialmente toda la varianza fue entre muestras. No pudieron rechazar la hipótesis nula de homogeneidad para cualquiera de las dos especies ni para ninguno de los marcadores. Los datos históricos son consistentes con la historia natural de la distribución continua a través de los trópicos, los amplios tiempos de desove en las áreas y las altas migraciones de los adultos soportan que Marlin azul y Marlin blanco comprenden cada uno stocks homogéneos en el Atlántico.

IX.3. FAMILIA XIPHIIDAE

IX.3.1. Pez espada (*Xiphias gladius*)

Grijalva-Chon *et al.* (1994) hicieron un análisis de estructura poblacional de Pez espada (*Xiphias gladius*) en el Pacífico Norte, muestreando las zonas Este (n=59), Oeste (n=47) y Central (n=42). El marcador que utilizaron fue ADNmit a través de RFLPs con 17 endonucleasas, de las que obtuvieron 27 haplotipos compuestos. Con este estudio demostraron la homogeneidad genética poblacional de *Xiphias gladius* entre las zonas, al observar que el 50% de los individuos de las tres localidades estaba caracterizado por sólo cuatro haplotipos comunes, además sólo un porcentaje no significativo (4.6 % con $p = 0.895$) de la diversidad total se atribuyó a diferencias genéticas dentro de las poblaciones.

Alvarado-Bremer *et al.* (1995a) en tres regiones del Atlántico, ocho del Mediterráneo y siete del Pacífico secuenciaron la región control de ADNmit de 35 Pez espada (*Xiphias gladius*). Encontraron 33 haplotipos y refieren que de acuerdo al árbol filogenético podrían asignarse en dos clados que en promedio divergieron hace 550 000 años. Los haplotipos del Clado I fueron ubicuos pero los del clado II predominaron en el Mediterráneo y estos probablemente fueron originados durante el Pleistoceno.

Kotoulas *et al.* (1995) con ADNmit a través de RFLPs analizaron 204 individuos de Pez espada (*Xiphias gladius*) entre muestras de tres sitios del Mediterráneo (Grecia, Italia y España) de lo cuales no encontraron diferencias significativas. Sin embargo, si hubo un alto grado de diferenciación entre las muestras del Mediterráneo y muestras del Golfo de Guinea y una quinta muestra del Atlántico al lado del estrecho de Gibraltar. Concluyen que

a pesar de la libre migración del pez espada a través del estrecho de Gibraltar hay una pequeña diferenciación entre las poblaciones del Mar Mediterráneo y el Océano Atlántico. Esta es una clara evidencia de diferenciación genética de poblaciones que son altamente migratorias.

Alvarado-Bremer *et al.* (1996) revelaron la existencia de estructura global de *Xiphias gladius* a través del análisis de la región control del ADNmit de las secuencias de 112 individuos colectados en Pacífico, Atlántico y Mediterráneo del cual obtuvieron 69 haplotipos. La diversidad haplotípica fue extremadamente alta en todas las áreas y las frecuencias de haplotipos individuales fueron bajas. El árbol filogenético del vecino más cercano, reveló que los genotipos podrían ser asignados en dos clados altamente divergentes. Aunque El AMOVA no reveló heterogeneidad entre poblaciones, otros tres análisis indicaron que la frecuencias haplotípicas fueron significativamente diferentes entre muestras del Atlántico, Pacífico y Mediterráneo. La comparación de frecuencias haplotípicas entre muestras del Este y Oeste del Atlántico indica alto flujo genético entre estas regiones, que coinciden con la hipótesis de homogeneidad. Sin embargo, este análisis estuvo limitado por un tamaño de muestra pequeño y es posible que la mezcla sea por grupos de alimentación. Por tanto este tipo de análisis genético no puede discriminar la existencia de flujo genético histórico o mezcla de poblaciones por dispersiones recientes.

Rosel y Block (1996) determinaron la estructura global de poblaciones de Pez espada (*Xiphias gladius*) con el análisis de la región control de ADNmit. Utilizaron 159 organismos de tres cuencas oceánicas (Mediterráneo, Atlántico y Pacífico) de los años 1988 a 1994. El análisis detectó alto nivel del polimorfismo a escala global ya que de la muestra

total obtuvieron 121 haplotipos únicos. A estos haplotipos únicos realizaron un análisis filogenético, los cuales revelaron dos clados divergentes, concordantes a sus distribuciones geográficas. La concordancia filogenética y biogeográfica, así como el análisis de la variación molecular (AMOVA) sugirió la estructura. Las estimaciones de intercambio genético entre poblaciones dentro de cuencas indicaron panmixia por lo que sugieren que quizá, con tamaños de muestra mayor se podría detectar también la subdivisión dentro de los océanos.

Un año mas tarde Chow et al. en 1997 comprobaron la estructura genética de (*Xiphias gladius*) en estas mismas regiones, pero con muestras más representativas. Seis localidades del Océano Pacífico, tres del Atlántico, una del Mar Mediterráneo y dos muestras del Océano Índico, dando un total de trece localidades con 456 organismos. Sus resultados indican que la población mundial de los peces espadas está estructurada genéticamente, no sólo entre, sino también dentro de océanos, lo cual sugiere que el flujo genético está restringido a pesar de la ausencia de barreras geográficas. Estos resultados los obtuvieron con el análisis de la región control de ADNmit con 4 enzimas de restricción de los cuales resultaron 52 genotipos compuestos. Las muestras mas diferentes fueron las del Mediterráneo. La heterogeneidad entre las muestras del Atlántico del Norte y del Sur fue significativa a diferencia de las del Pacífico. En contraste, las muestras del Océano Índico no eran notoriamente diferentes de las muestras del sur del Atlántico y del Pacífico. a diferenciación genética entre las muestras del Pacífico fue baja.

Reeb *et al.* (2000) analizaron la región control de ADNmit de 281 organismos *Xiphias gladius* del Pacífico. La tasa de heterogeneidad α indicó variación substancial en la tasa de mutación dentro de la región del control de los peces espada. El análisis jerárquico de la variación molecular apoyó la estructura genética significativa entre poblaciones del Pacífico. Las poblaciones del Norte y Meridiano en el Pacífico Occidental fueron significativamente divergentes, mientras que las poblaciones del Este fueron genéticamente continuas. El análisis de la regresión apoyó una correlación de diferencia genética con distancias geográficas. Estos resultados apoyan un patrón geográfico del pez espada en el Pacífico y rechazan la hipótesis nula de panmixia

Greig *et al.* (2000) sugieren evidencia de diferencia genética entre el Noroeste y Sur del Atlántico. La variación genética se observó en intrones de genes nucleares de aldolasa B (aldB) y lactato deshidrogenasa A (LdhA) el cual mostró diferencias significativas entre muestras. Estos resultados son consistentes con estudio previos con ADNmit que soportan que estas poblaciones deban considerarse como unidades de manejo independientes.

Pujolar *et al.* (2002) no encontraron estructura genética de *Xiphias gladius* en 9 muestras de distintos sitios del Mediterráneo y una adyacente al estrecho de Gibraltar. Para examinar la heterogeneidad temporal y espacial usaron alozimas lo cual reveló muy poca variabilidad genética comparada con otros pelágicos. Este estudio es consistente con la hipótesis nula de homogeneidad del Pez espada dentro del Mar Mediterráneo y Estrecho de Gibraltar.

Reeb *et al.* (2003) compararon con 11 *loci* microsatelitales muestras de *Xiphias gladius*, provenientes de dos áreas geográficas distantes, observaron heterogeneidades muy

variables desde 0.150 hasta 0.960. La mayoría de los loci estuvieron en equilibrio de HW excepto el locus Xg-59 que tuvo un déficit de heterocigosidad el cual atribuyen a la presencia de alelos nulos. Este estudio indica la estructura poblacional del pez espada ya que nueve de los once *loci* estudiados presentaron heterogeneidad espacial entre regiones geográficas.

Nohara *et al.* (2003) determinaron por medio de la variación genética de locus del gen calmodulin (CaM) que el pez vela presenta 2 poblaciones en el Atlántico genéticamente diferentes, aunque existe poco flujo genético entre ellas, una se encuentra esencialmente a los 20 grados N y la otra a los 10 S.