

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en Acuicultura**

**Caracterización genética poblacional del abulón negro
(*Haliotis cracherodii*) en Baja California, México**

Tesis
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Melina Cepeda Ochoa

Ensenada, Baja California, México
2019

Tesis defendida por
Melina Cepeda Ochoa

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Fabiola Lafarga De la Cruz
Director de tesis

Miembros del comité
Dra. Cira Gabriela Montaña Moctezuma
Dra. Carmen Guadalupe Paniagua Chávez
Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez



Dr. Fabiola Lafarga De la Cruz
Coordinadora del Posgrado en Acuicultura

Dra. Rufina Hernández Martínez
Directora de Estudios de Posgrado

Melina Cepeda Ochoa © 2019

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis.

Resumen de la tesis que presenta Melina Cepeda Ochoa como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura.

Caracterización genética poblacional del abulón negro (*Haliotis cracherodii*) en Baja California, México

Resumen aprobado por:

Dra. Fabiola Lafarga De la Cruz
Directora de tesis

El abulón negro (*Haliotis cracherodii*) es un recurso de gran importancia ecológica y socioeconómica en California y Baja California. Esta especie está listada en peligro crítico (Lista Roja de la UICN), ya que, su densidad poblacional disminuyó significativamente a mediados de los 80's presentando cambios en su distribución geográfica histórica. En California, estudios genéticos poblacionales evidencian que la recuperación natural de este recurso no es posible, dado que la especie presenta una baja dispersión larval que limita el flujo de genes entre localidades. En México, existen pocos estudios sobre su distribución y abundancia; mientras que su estado genético poblacional no ha sido estudiado. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue caracterizar genéticamente el recurso abulón negro (*Haliotis cracherodii*) en la costa Pacífico de Baja California, México. El área de estudio incluyó seis localidades de muestreo: Bajamar (BJM), Saldamando (SLM), Isla Todos Santos (ITS), Punta Banda (PBD), Faro San José (FSJ) e Isla Guadalupe (IGP) y se colectaron 341 abulones (tallas de 20-120 mm). Se analizaron 240 abulones con ocho marcadores microsatélites especie-específicos, incluidos 41 abulones de dos localidades de California (Andrew Molera (CAM) y Point Arguello (CAR)) descritas anteriormente por Beldade *et al.* (2012). Se calcularon las frecuencias alélicas, número de alelos (Na), alelos efectivos (Ne), riqueza alélica (Ra), alelos privados (AP), heterocigosidades (Ho, He), coeficiente de endogamia (F_{IS}) y Equilibrio de Hardy Weinberg (EHW). El grado de estructura poblacional se determinó mediante la diferencia genética entre pares de localidades (F_{ST}) y el número de componentes genéticos (STRUCTURE). Se realizó la prueba de Mantel para evaluar aislamiento por distancia (IBD) y se generó un dendrograma de similitud genética (Dc) entre las localidades evaluadas. Y se evaluó la tasa de migración pasada (MIGRATE) y si existe una reducción reciente en el tamaño efectivo poblacional (BOTTLENECK). Los resultados mostraron un déficit de heterocigotos en todas las localidades ($H_e = 0.917$; $D_e = 0.005$; $H_o = 0.459$; $D_e = 0.032$) y un alto coeficiente de endogamia ($F_{IS} = 0.227-0.861$; $p < 0.05$). Las localidades de California resultaron ser genéticamente diferentes a los de Baja California ($P < 0.0062$); las localidades continentales mostraron similitudes genéticas ($P > 0.0062$) entre ellas. Mientras que, Isla de Guadalupe evidenció ser genéticamente diferentes de todas ($P < 0.0062$). En el análisis de la estructura genética poblacional se agruparon las localidades de California como un solo componente, en el segundo grupo se asociaron las localidades del continente e Isla Todos Santos y el tercer grupo se conformó solamente por Isla Guadalupe. La relación filogeográfica mostró tres clados: 1) CAM y CAR, 2) BJM, SLM, ITS y FSJ, y 3) PBD, usando como grupo externo a Isla Guadalupe. El análisis de conectividad evidenció una dispersión larval de modelo dual, a cortas y largas distancias de su localidad natal. Siendo, el aporte más significativo a microescala, en dirección de sur a norte y a macroescala de norte a sur. En concordancia con los estudios de taxonomía tradicionales basados en características morfológicas, los resultados de este estudio sugieren que los abulones negros de la Isla de Guadalupe son una subpoblación diferente y podrían ser una subespecie. Sin embargo, es necesario realizar más estudios biológicos y genéticos para corroborarlo. En conclusión, los resultados de este estudio mostraron que los esfuerzos de recuperación como el repoblamiento se pueden realizar entre áreas genéticamente similares de Baja California, y que es necesario estudiar las épocas reproductivas en Baja California. Mientras que, en Isla Guadalupe, es necesario generar información básica ecológica, biológica y genética para evaluar el estado actual del recurso y si existe estructura genética del abulón negro a lo largo de la isla.

Palabras clave: Abulón negro, *Haliotis cracherodii*, genética poblacional, heterocigosis, endogamia, cuello de botella, F_{ST} , estructura poblacional, migración, Baja California

Abstract of the thesis presented by Melina Cepeda Ochoa as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture

Population genetic characterization of black abalone (*Haliotis cracherodii*) in Baja California, Mexico

Abstract approved by:

Dra. Fabiola Lafarga De la Cruz
Thesis Director

The black abalone (*Haliotis cracherodii*) is a very valuable resource of ecological and socioeconomic importance; It is listed as critically endangered (IUCN Red List), since the population declined significantly in the mid 80's along with its geographical distribution. In California, genetic population analyzes warn that the recovery of black abalone will be very difficult due to low larval distribution, which prevents the dispersion of genes to increase genetic variability. In Mexico, there are only a few studies on its distribution and abundance, while the genetic state of the population has not been studied. Therefore, the main objective of this work was to genetically characterize the black abalone (*Haliotis cracherodii*) in Baja California, Mexico. Six sampling locations from the north to the center of the peninsula were selected: Bajamar (BJM), Saldamando (SLM), Todos Santos Island (ITS), Punta Banda (PBD), San José Lighthouse (FSJ) and Guadalupe Island (IGP), and 341 abalone were collected with a size range of 20 to 120 mm. A total of 240 black abalones were analyzed using eight species-specific microsatellite markers, including 41 abalones from two California locations, Andrew Molera and Point Arguello, described previously by Beldade *et al.* (2012). The genetic variability of each population was calculated (allelic diversity, effective alleles, allelic richness, heterozygosity, inbreeding coefficient and Hardy Weinberg equilibrium); the distance isolation between pairs of locations: the population structure, the genetic migration, and the phylogeographic relationship. The results showed a heterozygous deficit in all locations ($H_e = 0.917$; $SD = 0.005$; $H_o = 0.459$; $SD = 0.032$) and a high inbreeding coefficient ($F_{IS} = 0.227-0.861$; $p < 0.05$). Black abalones of California turned out to be genetically different from those of Baja California ($P < 0.0062$), and those of the continental coast showed genetic similarities between them ($P > 0.0062$). Whereas, the abalones from Guadalupe island proved to be genetically different from all the others ($P < 0.0062$). The genetic population structure of California was grouped as a single component; continental localities and Isla Todos Santos were associated in a second group, and the third group was structured with Guadalupe Island. Finally, the phylogeographic relationship formed three clades: 1) CAM and CAR, 2) BJM, SLM, ITS and FSJ and 3) Punta Banda, considering Guadalupe island as an outgroup due to the genetically differences observed. The connectivity analysis showed a dual larval dispersal mode, at short and long distances from their natal location. Being, the most significant contribution to microscale, in the direction from south to north and to macroscale from north to south. As traditional taxonomy studies based on morphological characteristics have shown, our results suggested that black abalones from Guadalupe island are a subpopulation and can be a subspecies. However, more biological and genetic studies are necessary to corroborate it. In conclusion, the results of this study showed that recovery efforts such as restocking can be carried out between genetically similar areas of Baja California, and that it is necessary to study the reproductive seasons in Baja California. While, in Guadalupe Island, it is necessary to generate basic biological, ecological and genetic information to evaluate the current status of the resource and if there is genetic structure of the black abalone along the island.

Keywords: Black abalone, *Haliotis cracherodii*, populations genetics, heterozygosity, inbreeding, bottleneck, F_{ST} , population structure, migration, Baja California

Dedicatoria

A Dios

Y todo lo que hagan, sea de palabra o de hecho, háganlo todo en el nombre del Señor Jesús, dando gracias a Dios Padre por medio de Él.

A mis padres

Por su apoyo su apoyo incondicional y por confiar siempre en mí.

A ti mami, por ser mi ejemplo de fortaleza, por enseñarme que todo se puede, por siempre estar para mí, TE AMO.

A mis hermanas

Daniela

Estefi

Georgy

Por su amor incondicional, ustedes son mi sustento y mi fortaleza para seguir adelante.

Encomienda a Jehová tu camino, y confía en Él; y Él hará.
Salmos 37:5

Agradecimientos

A Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca que me brindó para llevar a cabo mi investigación.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada por permitirme formar parte de la comunidad científica y por el apoyo económico para terminar mi tesis.

Al Departamento de Acuicultura por abrirme sus puertas y apoyarme en mi formación Acuícola y científica.

A mi directora de tesis la Dra. Fabiola Lafarga De la Cruz, por aceptarme como su estudiante, por brindarme su apoyo, por ayudarme a enriquecer mi trabajo de investigación, por llevarme de muestreo, por todas las horas de clases que me dedicó, por darme ánimo, por transmitirme su espíritu científico alegre y por todas cosas buenas que me enseñó.

A la Dra. Clara Elizabeth Galindo por su apoyo durante el ingreso a la maestría, por haberme permitido trabajar con ella y conocer CICESE, por sus ánimos y sus aportaciones para finalizar mi tesis

A la Dra. Gabriela Montaña por incluirme en el programa de muestreos de abulón negro, por las observaciones a mi trabajo que me permitieron mejorarlo.

A la Dra. Carmen Paniagua por aceptar formar parte de mi comité y por todas las observaciones en mi trabajo de investigación.

A la M.C. Carmen Vargas por todo el apoyo que me brindó durante mi estancia en el Laboratorio de genética, por ayudarme en cada proceso, por cada consejo para mejorar las cosas y por tolerar los errores que cometí en el Laboratorio.

A la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), especialmente al Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO), por permitirme formar parte de su equipo de muestreo de abulón negro.

Al Dr. John Hyde por proporcionarme las muestras de DNA de abulón negro de Isla Guadalupe.

Al Dr. Giacomo Bernardi por proporcionarme la información genética de las localidades de California.

A mis compañeros de generación: Rosy. Dora, A., Eliasid R., Gabriel E., Patricio G. y Leonardo D.

A todas las personas que formaron parte del equipo de muestreo “Abulón negro”, por ayudarme a recolectar mis muestras.

A mi amiga Diamanda por ser mi persona, y por acompañarme en los momentos buenos y no tan buenos.

A Carmen y Nacho por ser mis amigos, por animarme siempre, preocuparse por mí, por transmitirme su alegría y por siempre tener tiempo para resolver mis dudas.

A Jasson por llegar a mi vida y mejorarla en todo, por siempre estar para mí, por ser mi familia y mi persona.

A mis amigos y familia Carmen Adame, Alfredo y sus hijos, por abrirme las puertas de su casa, por permitirme formar parte de su hermosa familia y por ayudarme en todo momento, les estaré eternamente agradecida.

A mis abuelos por darme su amor incondicional y tratar siempre de protegerme.

Al Dr. Gerardo y la Dra. Varinka por mostrarme el camino de la ciencia y confiar en mí.

A todas las personas con las que coincidí en mi estancia en Ensenada y CICESE, por el impacto que dejaron en mi vida.

Tabla de contenido

Resumen en español	ii
Resumen en inglés	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Lista de figuras	ix
Lista de tablas.....	xii
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1. Antecedentes	1
1.1.1. Pesquería del abulón negro en California	3
1.1.2. Pesquería del abulón negro en México.....	4
1.1.3. Biología del abulón negro.....	7
1.1.4. Taxonomía del abulón negro.....	9
1.1.5. Estudios genéticos del abulón negro	10
1.1.6. Marcadores moleculares tipo microsatélite para estudios de genética poblacional	14
1.2. Justificación	15
1.3. Hipótesis.....	16
1.4. Objetivos	16
1.4.1. Objetivo general	16
1.4.2. Objetivos específicos.....	16
Capítulo 2. Metodología.....	18
2.1. Área de estudio	18
2.2. Extracción de DNA.....	20
2.3. Amplificación de marcadores microsatélite especie-específico	21
2.4. Análisis de fragmentos microsatélites	23
2.5. Análisis genético poblacional	23
2.5.1. Diversidad alélica.....	24
2.5.2. Diferencias genéticas y estructura poblacional	24
2.5.3. Migración y cuello de botella	25
2.6. Análisis estadístico	26
Capítulo 3. Resultados.....	27
3.1. Extracción de DNA: calidad e integridad.....	27

3.2. Amplificación de marcadores microsatélites especie-específicos	28
3.3. Análisis de fragmentos microsatélites	28
3.4. Análisis genéticos poblacional.....	29
3.4.1. Diversidad alélica en localidades de California, EE. UU.	29
3.4.2. Diversidad alélica en localidades de Baja California, México.....	30
3.5. Análisis genéticos poblacional entre localidades.....	33
3.5.1. Diversidad alélica entre localidades.....	33
3.5.2. Heterocigosidad esperada y observada, y coeficiente de endogamia entre localidades	40
3.5.3. Exceso de homocigotos por presencia de alelos nulos	41
3.6 Diferenciación genéticas entre localidades.....	43
3.6.1. Distancias genéticas y distancias geográficas con todos los individuos	43
3.6.2. Distancias genéticas y distancias geográficas con juveniles y adultos.....	45
3.6.3. Aislamiento por distancia con todos los individuos.....	47
3.6.2. Dendrograma	48
3.7 Estructura poblacional entre localidades.....	49
3.7.1. Estructura poblacional con todos los individuos.....	49
3.7.2. Estructura poblacional con juveniles	51
3.7.3. Estructura poblacional con adultos.....	52
3.7.4. Análisis de varianza molecular (AMOVA)	53
3.8 Conectividad entre localidades y cuello de botella.....	54
3.8.1. Migración	54
3.8.2. Cuello de botella	55
Capítulo 4. Discusión	56
4.1 Diversidad genética	56
4.2 Diferenciación genética.....	60
4.3 Estructura poblacional y conectividad entre localidades	62
4.4 Isla Guadalupe	68
4.5 Prospección del abulón negro.....	69
Capítulo 5. Conclusiones	71
Capítulo 6. Recomendaciones.....	72
Literatura citada	73
Anexos.....	81

Lista de figuras

Figura 1. Rango de distribución geográfica histórica del abulón negro <i>Haliotis cracherodii</i> de Coos Bay, Oregon, EE. UU. a Cabo San Lucas, B.C.C. México (Cox, 1962) y actual de Punta Arena, California, EE. UU. a Bahía Tortugas, B.C.S. México (NMFS, 2018).	2
Figura 2. Serie histórica de capturas comerciales de abulón negro (ton/año) en California, EE. UU. durante el periodo de 1956 a 1993 (Leet <i>et al.</i> , 2001).	4
Figura 3. Serie histórica de capturas comerciales de abulón negro (ton/año) en la península de Baja California, México durante el periodo de 1992-2019. Datos calculados a partir de los datos de porcentaje de composición por especie y el volumen total de captura de abulón durante 1990-2003 (Sierra-Rodríguez <i>et al.</i> , 2006). Y datos proporcionados por la empresa Litoral de Baja California, S. P. R. de R. L. (2017-2019).	6
Figura 4. Ciclo de vida de gasterópodos del género <i>Haliotis</i> (Shepherd <i>et al.</i> , 1992).	8
Figura 5. A) Curva de crecimiento del abulón negro durante sus primeros seis años de vida y B) relación de tasas de crecimiento y la talla inicial del abulón en dos localidades de California EE. UU. (generadas con observaciones de Leighton y Boolootian, 1963).	9
Figura 6. Conchas de abulón negro A) <i>H. cracherodii cracherodii</i> colectado en la zona intermareal de la Jolla, CA. (100.3 mm, 1951) y B) <i>H. cracherodii californiensis</i> colectado en la zona intermareal de Roca Elefante y West Anchorage en Isla Guadalupe, B. B., México (97.4 y 110.3 mm, respectivamente) (Geiger y Owen, 2012).	10
Figura 7. Localidades de abulón negro <i>Haliotis cracherodii</i> utilizadas para este estudio.	18
Figura 8. Electroforesis en gel de agarosa de los productos de amplificación del Gen COI (528 pb; Metz <i>et al.</i> , 1998) en muestras de las localidades de A) Saldamando (SLM: 3, 10, 12, 14), Bajamar (BJM: 182, 183, 186, 191), Punta Banda (PBD: 372, 374, 375), Isla Todos Santos (ITS; 542, 543, 563) y B) Isla Guadalupe (IGP, 1-15). Como referencia se uso un marcador de peso molecular (MP) de 100 pares de bases.	27
Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa de los productos de amplificación del microsatélite HCH_A11 (rango alélico entre 250 a 314 pb) en muestras de Punta Banda (PBD, 1-16). Como referencia un marcador de peso molecular (MP) de 100 pares de bases.	28
Figura 10. Electroferogramas resultantes del análisis de fragmentos con electroforesis capilar de alta resolución: a) organismo heterocigoto (presencia de dos alelos) y b) organismo homocigoto (presencia de un alelo).	29
Figura 11. Número de muestra (N), Número de alelos (Na) y Riqueza alélica (Ra) total por localidad.	34
Figura 12. Media del número de muestra (N), número de alelos (Na) y riqueza alélica (Ra) por localidad. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.	34

- Figura 13.** Número promedio de alelos por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) evaluado. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.35
- Figura 14.** Número promedio de alelos efectivos (N_e) por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) evaluado. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.36
- Figura 15.** Número promedio de riqueza alélica (R_a) por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) evaluado. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.37
- Figura 16.** Número promedio de alelos privados (A_P) por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) evaluado. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.39
- Figura 17.** Valores promedio de heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o ; A) y coeficiente de endogamia (F_{IS}) por localidad. Los extremos de las cajas muestran valores mínimos y máximos de H_e y H_o , los recuadros negros representan la media y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.40
- Figura 18.** Porcentaje promedio de alelos nulos por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) para abulón negro. Las cajas representan los valores máximos y mínimos de cada población, los cuadros dentro de las cajas son la media de los datos y los bigotes son la desviación estándar por población. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.42
- Figura 19.** Relación entre los valores del coeficiente de fijación F_{ST} no significativos, y por lo tanto genéticamente similares, y la distancia geográfica entre localidades.44
- Figura 20.** Relación entre los valores del coeficiente de endogamia F_{ST} significativos, y por lo tanto genéticamente diferentes, y la distancia geográfica entre localidades.45
- Figura 21.** Relación entre las distancias geográficas y distancias genéticas normales (km y F_{ST}).47
- Figura 22.** Dendrograma inferido con el método del vecino más cercano con base en las distancias genéticas de Cavalli-Sforza y Edwards (D_c , 1967) en las localidades de abulón negro evaluadas en este estudio, anclado a la localidad de IGP como grupo externo dadas las diferencias genéticas observadas.49
- Figura 23.** Gráfico de estructura poblacional a través de componentes con $K=9$ como primera instancia para conocer el número real de agrupaciones.50
- Figura 24.** Gráfico de estructura genética poblacional con un k igual a 4.51
- Figura 25.** Resultados de la estructura poblacional con un k igual a 5 (A) y k igual a 2 (B), utilizando a los organismos juveniles (< 50 mm) de cada localidad.51

- Figura 26.** Resultados de la estructura poblacional con un k igual a 6 (A) y k igual a 3 (B), utilizando a los organismos adultos (> 50 mm) de cada localidad.....52
- Figura 27.** Conectividad entre las localidades analizadas. El grosor de las flechas indica la intensidad del flujo y el color indica el número de migrantes entre localidades.54
- Figura 28.** Temperaturas superficiales durante los meses de marzo a octubre y los estados de recuperación (R), maduración gonadal (MG) y desove (D) reportados en localidades de California (Booolootian *et al.*, 1962; Webber y Giese, 1969; Leighton y Booolootian, 1963) e Isla de Cedros en Baja California (Ortiz, 1985). a) = marzo, b) = abril, c)= mayo, d)= junio, e)= julio, f)= agosto, g)= septiembre, h)= octubre.64
- Figura 29.** Factores biológicos que influyen en la dispersión larval (A) y modelos de dispersión larval propuesto en abulones (tomadas de Miyake *et al.*, 2017). En A, las líneas sólidas indican la dirección del efecto en la dispersión larval, y las líneas punteadas indican la dirección de las interacciones entre factores. En B, los círculos indican las subpoblaciones (o población local) y las flechas indican la dirección de la dispersión larval.66
- Figura 30.** Evento de un remolino ciclónico y anticiclónico durante el mes de agosto. Imagen tomada de Mateos y Marinone (2017).67
- Figura 31.** Características morfológicas de las conchas pertenecientes a la subpoblación de Isla Guadalupe.69
- Figura 32.** Densidad de abulón negro (org/m^2) en diferentes localidades de Baja California evaluadas por Ibarra-Macías y colaboradores (2019) para estimar la recuperación de este recurso en México.70
- Figura 33.** Inferencia de los grupos reales $k=4$ por structure harvester.88

Lista de tablas

Tabla 1. Proporción que representa la pesquería del abulón negro en México respecto al total de la captura registrada.	6
Tabla 2. Resumen de los estudios genéticos publicados de abulones nativos del Noreste del Pacífico Norte.	13
Tabla 3. Localidades de muestreo y número de muestras de abulón negro utilizadas en este estudio.	19
Tabla 4. Listado de marcadores moleculares microsatélites específicos para abulón negro (<i>H. cracherodii</i>) desarrollados por Beldade <i>et al.</i> (2012) y utilizados en este estudio.	22
Tabla 5. Resultado de las distancias geográficas (arriba de diagonal) y distancias genéticas (bajo la diagonal) entre pares de localidades con todos los individuos. Los valores con * indican pares de localidades donde existen diferencias genéticas estadísticamente significativas ($P < 0.00625$).	44
Tabla 6. Resultado de las distancias geográficas (arriba de diagonal) y distancias genéticas (bajo la diagonal) entre pares de localidades con organismos juveniles (<50 mm). Los valores con * indican pares de localidades donde existen diferencias genéticas estadísticamente significativas ($P < 0.00625$).	46
Tabla 7. Resultado de las distancias geográficas (arriba de diagonal) y distancias genéticas (bajo la diagonal) entre pares de localidades con organismos adultos (>50 mm). Los valores con * indican pares de localidades donde existen diferencias genéticas estadísticamente significativas ($P < 0.00625$).	46
Tabla 8. Resultados de aislamiento por distancia con la estimación F_{ST} con distancias geográficas y la transformación logaritmo de F_{ST} con logaritmo de distancias geográficas (km).	47
Tabla 9. Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA).	53
Tabla 10. Valores de cuello de botella mediante la prueba de Wilcoxon, según los modelos de mutación de microsatélites (IAM es el modelo de alelos infinitos, TPM es modelo de mutación en dos fases y SMM es el modelo de mutación por pasos).	55
Tabla 11. Estados de desarrollo gonadal del abulón negro reportados en zonas de California y Baja California.	63
Tabla 12. Resultados de la diversidad alélica en la población Andrew Molera, California (CAM).	81
Tabla 13. Resultados de la diversidad alélica en la población Point Arguello, California (CAR).	81
Tabla 14. Resultados de la diversidad alélica en la población Bajamar, México (BJM).	82
Tabla 15. Resultados de la diversidad alélica en la población Saldamando intermareal, México (SLM). ...	82
Tabla 16. Resultados de la diversidad alélica en la población Isla Todos Santos, México (ITS).	83
Tabla 17. Resultados de la diversidad alélica en la población Punta Banda, México (PBD).	83

Tabla 18. Resultados de la diversidad alélica en la población Faro San José, México (FSJ).	84
Tabla 19. Resultados de la diversidad alélica en la población Isla Guadalupe, México (IGP).	84
Tabla 20. Número de alelos privados por marcadores microsatélite y localidades evaluadas.	85
Tabla 21. Porcentaje de alelos nulos por marcadores microsatélite y localidades evaluadas.	86
Tabla 22. Prueba de Tukey, donde se muestran las diferencias significativas entre pares de localidades respecto al porcentaje de alelos nulos.	86
Tabla 23. Prueba de Tukey, donde se muestran las diferencias significativas entre pares de marcadores microsatélites respecto al porcentaje de alelos nulos.	86
Tabla 24. Valores de distancias genéticas significativos y no significativos entre pares de localidades.	87
Tabla 25. Transformaciones realizadas a los valores de distancias genéticas.	87
Tabla 26. Porcentaje de permanencia en grupos inferidos con el programa structure.	88
Tabla 27. Tabla de migración de norte a sur y de sur a norte entre localidades costeras de Baja California	89

Capítulo 1. Introducción

1.1. Antecedentes

Los abulones son moluscos marinos pertenecientes a la clase gasterópoda y al monogénero *Haliotis* (Cox, 1962; Sierra-Rodríguez et al., 2006). Existen alrededor de 56 especies y la mayoría se encuentran en fondos someros en regiones templadas y tropicales del mundo (Geiger y Owen, 2012). Se considera que menos de 20 especies en el mundo alcanzan tallas apropiadas para ser explotadas por pesquería comercial y acuicultura (Sierra-Rodríguez et al., 2006). En el Noroeste del Océano Pacífico, se distribuyen ocho especies nativas de abulones, de los cuales en aguas mexicanas se encuentran siete, que son *H. fulgens* (abulón azul), *H. corrugata* (amarillo), *H. cracherodii* (negro), *H. rufescens* (rojo), *H. sorenseni* (chino), *H. katmschatkana assimilis* (rayado) y *H. walallensis* (aplanado) (Cox, 1962). En los estados de Baja California y Baja California Sur, el recurso abulón ha representado desde la década de los años 60 un importante recurso pesquero para el desarrollo económico y social, siendo las especies sujetas a explotación el abulón azul, amarillo, rojo, chino y negro (INAPESCA, 2004; Zamora-García, 2016).

En los años 60's, el abulón negro *Haliotis cracherodii* (Leach, 1814) era una especie muy común que habitaba el litoral costero rocoso de California y Baja California, muy fácil de colectar en mareas bajas, dada su distribución en la zona intermareal de los 0 a 6 metros de profundidad (Leighton y Boolootian, 1963). La distribución geográfica histórica de esta especie estaba reportada desde Coos Bay, Oregon, EE. UU., hasta Cabo San Lucas, Baja California Sur, México (Cox, 1962). Sin embargo, su rango de distribución se ha restringido de Punta Arena, California, EE. UU. hasta Bahía Tortugas, Baja California Sur, México (Figura 1), a consecuencia de la sobrepesca, la pesca ilegal y la susceptibilidad de esta especie a la enfermedad del síndrome de deshidratación (SD) (Braje et al., 2007; Neuman et al., 2010).

Datos históricos de la pesquería de abulón en Baja California, señalan que, en el año 1991 entre todos los abulones explotados, la concha mejor valorada era la del abulón negro. Los mercados extranjeros contribuían grandemente a la economía del país pagando la tonelada de concha en más de 11 mil dólares; posteriormente, esta demanda disminuyó (León-Carballo y Muciño-Díaz, 1996; Sierra-Rodríguez et al., 2006). En 1996, las autoridades pesqueras de México implementaron medidas de manejo del recurso abulón, y se propuso no extraer el recurso del medio, hasta declarar mejorías en sus poblaciones naturales (León-Carballo y Muciño-Díaz, 1996). Esta misma propuesta ha sido emitida en diversos años en el Diario Oficial de la federación (DOF) por el INAPESCA (DOF, 2000, 2006, 2010, 2012), además del establecimiento

una talla mínima de captura de la especie por zona (DOF, 2017). La Carta Estatal pesquera de Baja California propuso la misma recomendación (SEPESCABC 2000-2018). Sin embargo, han existido capturas legales esporádicas de este recurso, principalmente en Bahía Todos Santos, en donde el recurso no había sido explotado desde 1997. En esta localidad se asignaron cuotas en 2017 y 2019, con base en la evaluación de la biomasa disponible (com. Pers. SCPP. Litoral de Baja California). Por otra parte, se siguen registrando capturas ilegales de abulón negro, pero se desconocen las cantidades extraídas (Inforural, 2018). Según el estudio realizado por Zamora-García (2016), sobre la pesca ilegal del abulón en la península de Baja California, las principales especies capturadas de manera ilegal son el abulón azul (89%), amarillo (1%) y el negro, aunque para este último no fue posible para este último determinar el porcentaje por falta de información en los aseguramientos realizados por las autoridades responsables (PROFEPA. PGR, CONAPESCA), aunque se cree que es bajo dada la poca abundancia actual del recurso. Sin embargo, dado que es la especie con mayor acceso, por su distribución en la zona intermareal y que no se requiere buceo para su extracción, se vuelve esencial su protección mediante medidas de manejo adecuadas (Leet *et al.*, 2001). La pesca ilegal del abulón de 1990 a 2015 fue calculada en 35 toneladas por año y la pesca no declarada fue de 61 toneladas anuales, 11 y 21 % del total respectivamente, que equivale a 22 millones de dólares de pérdida de esta pesquería en la península (Zamora-García, 2016).



Figura 1. Rango de distribución geográfica histórica del abulón negro *Haliotis cracherodii* de Coos Bay, Oregon, EE. UU. a Cabo San Lucas, B.C.C. México (Cox, 1962) y actual de Punta Arena, California, EE. UU. a Bahía Tortugas, B.C.S. México (NMFS, 2018).

1.1.1. Pesquería del abulón negro en California

En California, EE. UU., la explotación comercial inició desde 1850 por parte de los inmigrantes chinos (Cox, 1962; Braje *et al.*, 2007). Durante este periodo se desconoce el volumen de las capturas de abulón negro, pero se sabe por datos arqueológicos que grandes cantidades de abulón negro de tallas entre 60-160 mm fueron explotados por los pescadores chinos (Braje *et al.*, 2007) y se reporta que su pico máximo fue alcanzado en 1879 (Cox, 1962). A finales del siglo 19, los chinos fueron excluidos de la pesquería del abulón en California y en el periodo de 1905 a 1909 el Estado emitió leyes restringiendo la pesca de abulón a temporadas y tallas específicas como medidas de regulación para proteger el recurso (Braje *et al.*, 2007). Mientras que, de 1913 a 1943 todas las pesquerías del abulón fueron cerradas (Cox, 1962; Leet *et al.*, 2001). Posteriormente en los años 50's, la pesquería comercial de las distintas especies de abulón fue inaugurada, la cual, nuevamente fue controlada por pescadores japoneses, también, por italianos, portugueses, americanos europeos (Braje, *et al.*, 2007). De 1951 a 1969 se reportaron capturas combinadas entre las 2, 000 toneladas anuales y un decremento significativo de las mismas en el periodo de 1969 a 1982 (Karpov *et al.*, 2000). Específicamente en el abulón negro, se registraron capturas de 862 toneladas en 1973, dos años más tarde se registraron 310 toneladas y en 1993 se registró menos de una tonelada (921 kilogramos) (Figura 2). Esto debido a que a mediados de los 80's las poblaciones se vieron fuertemente afectadas por la enfermedad del Síndrome de Deshidratación (SD) que acabó con más del 95% del abulón negro en algunas localidades costeras, principalmente al sur de California (Leet *et al.*, 2001)

Como una medida de protección en California, el abulón negro fue agregado a la lista de especies *candidato* en 1999, *especie de preocupación* en 2004 y catalogada en *peligro* en 2009 (Neuman *et al.*, 2010). En la actualidad, la especie está catalogada en *peligro crítico* en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés; <https://www.iucnredlist.org/species/41880/10566196>), por lo que su captura en California es ilegal (Smith *et al.*, 2003). En California, el monitoreo a largo plazo de esta especie, iniciado en algunos lugares desde mediados de los años 70's, ha permitido observar un reclutamiento e incremento en el número de abulones negros en diferentes localidades en el sur de California (Eckdahl, 2015), donde solo pocos individuos sobrevivieron al síndrome de deshidratación (SD; Leet *et al.*, 2001). Se cree que la abundancia de este recurso ha disminuido de 40 org/m² en los años antes del inicio de su explotación, a 2.8 org/m² de 1975 a 1979 (Gutierrez y Hogarth, 2006), hasta una densidad de 0.03 org/m² en el periodo de 1985-1991 cuando se dio el SD, y posteriormente se observa un ligero aumento a 0.04 org/m² de 2012-2015 (Eckdahl, 2015).

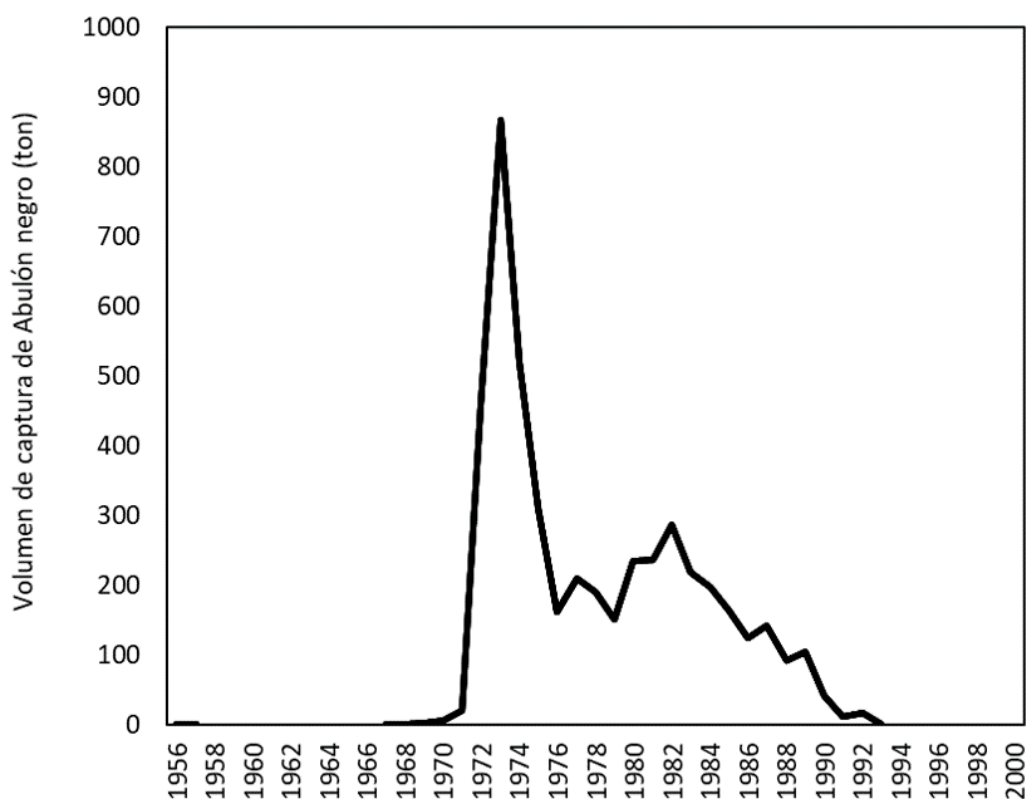


Figura 2. Serie histórica de capturas comerciales de abulón negro (ton/año) en California, EE. UU. durante el periodo de 1956 a 1993 (Leet *et al.*, 2001).

1.1.2. Pesquería del abulón negro en México

En México, la pesquería de abulón inició en 1860 con la incursión de los inmigrantes chinos con base en San Diego, California (Cox, 1962). Posteriormente, en 1940 los pescadores mexicanos formaron los campos pesqueros actuales y las primeras cooperativas en la península de Baja California (Sierra-Rodríguez *et al.*, 2006). Debido al descenso de las capturas de abulón rojo, azul y amarillo en la década de los 70's, la pesquería del abulón negro entró a formar parte de las capturas comerciales (Gonzales-Aviles y Ortiz-Quintanilla, 1986). Por ello, el abulón negro aparece en la Carta Nacional Pesquera (CNP) como una especie sujeta a explotación comercial (DOF, 2017), y como medida de manejo, en la NOM-005-PESC-1993 se establece una talla mínima de extracción de 120 mm en las Zonas I y II (desde la línea divisoria internacional con EUA hasta Bahía Asunción en B.C.S., incluidas las islas adyacentes) la norma no especifica una talla mínima en las zonas III y IV, las cuales van del primer tercio noroeste de Bahía Asunción de la desembocadura del Arroyo Conejo en Baja California Sur. Adicionalmente, la pesquería está sujeta a la

autorización de la cuota de captura que se establece con base en los resultados de los estudios de evaluación del recurso. Cabe resaltar que las capturas de abulón negro han sido esporádicas y de bajos volúmenes en los últimos años (DOF, 2004, 2010 y 2012). En los anuarios estadísticos pesqueros se registra la captura total de abulón, sin especificar el volumen por especie y por ello es difícil determinar cómo se ha comportado la captura de abulón negro en México. Sin embargo, en la Carta Nacional Pesquera, documento oficial emitido por INAPESCA, se reporta el porcentaje que representa el abulón negro de las capturas en diferentes periodos, así que con estos datos se calculó la captura anual promedio de esta especie (Tabla 1).

Durante el periodo de 1980-1999 las capturas de abulón negro representaron un 3.4% del total (DOF, 2000; Tabla 1), y considerando la producción anual total de ese periodo (20.779 ton) se estima que la cantidad total de abulón negro capturado en estos 20 años fue de 706 toneladas con un promedio de 35.3 ton/año aproximadamente. Sin embargo, en el año de 1994 el abulón negro representó sólo el 0.63 % del total registrado (2, 030 ton) lo que significó un total de 9.5 toneladas de abulón negro (sierra-Rodríguez *et al.*, 2006). En el año 1996, las cooperativas firmaron un convenio para no capturar abulón negro, rojo ni chino. Sin embargo, se siguió reportando una captura esporádica, aunque muy baja (Figura 3) proveniente principalmente de Isla Guadalupe (Sierra-Rodríguez *et al.*, 2006). Finalmente, según los datos del periodo de 1990-2010, las capturas de abulón negro representaron tan sólo el 0.15% del total de la pesquería de 29,0912 toneladas, calculándose 34 toneladas y en promedio 1.6 ton/año (DOF, 2012; Tabla 1). Para 2010, las capturas de abulón negro, *H. cracherodii* correspondieron principalmente a la explotación realizada en la Isla Guadalupe debido a que los bancos naturales de la Península de Baja California estaban prácticamente desaparecidos (Searcy-Bernal *et al.*, 2010). A partir de 2016 se evidenció que algunas localidades costeras, adyacentes a Ensenada, presentaban una recuperación natural del recurso en México (com. Pers Lafarga De La Cruz, 2016) y el INAPESCA, previo dictamen técnico, asignó cuota para la captura de abulón negro en la Zona I, al norte de Ensenada y de nuevo se registró una captura que representó el 0.65% (0.72 toneladas) de lo capturado en Baja California (111 toneladas) en el año 2017. En biometría realizada a una muestra de 137 abulones negros de esta pesquería se determinó una talla promedio de 141 mm (± 14.5 mm) de longitud de concha. Posteriormente, en 2018 y 2019 se otorgaron nuevas cuotas de captura de abulón negro en esta zona (com. Pers. Litoral de B.C., S.P.P. de R.L.).

Tabla 1. Proporción que representa la pesquería del abulón negro en México respecto al total de la captura registrada.

AÑO	Captura total por periodo (Ton)	Porcentaje promedio que representa el abulón negro del total	Captura total de abulón negro (ton)	Captura anual promedio de abulón negro (ton/año)	Años del periodo	Fuente de Datos del DOF
1980-1999	20,779 ¹	3.40	706	35.3	20	CNP, 2000
1990-2010	22,912 ¹	0.15	34	1.6	21	CNP, 2012

¹ calculada a partir del total anual reportado en los Anuarios Estadísticos Pesqueros. *Considerando los valores posteriores (2012), se cree que el mayor volumen de captura de abulón negro se realizó de 1980 a 1990 y posteriormente disminuyó. Mientras que de 1970 a 1980, no existen datos para realizar un estimado.

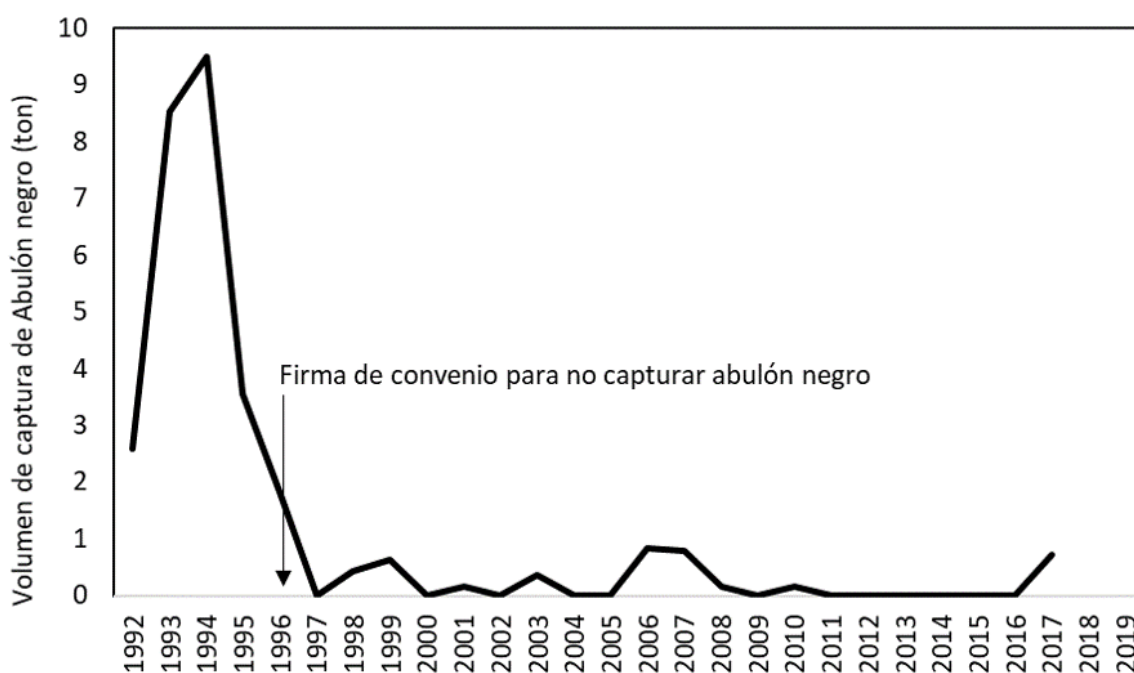


Figura 3. Serie histórica de capturas comerciales de abulón negro (ton/año) en la península de Baja California, México durante el periodo de 1992-2019. Datos calculados a partir de los datos de porcentaje de composición por especie y el volumen total de captura de abulón durante 1990-2003 (Sierra-Rodríguez *et al.*, 2006). Y datos proporcionados por la empresa Litoral de Baja California, S. P. R. de R. L. (2017-2019).

En Baja California, la presencia del patógeno causante de la enfermedad del SD en abulón negro fue reportada por Valles-Ríos (2000), quien analizó 27 abulones negros obtenidos durante las capturas comerciales de 1992 de la S. C.P.P. Bahía Tortugas de la localidad de Los Morros, en Baja California Sur, aunque se sugiere que la afectación no fue de la magnitud observada en los años 80's en California, se observaron bajas densidades en las poblaciones mexicanas en el mismo periodo que California (Valles-

Ríos, 2000; Cruz-Flores, 2017). Por lo cual, la disminución en sus capturas parece estar más relacionado con la pesca ilegal y pesca no declarada, que ha tenido mayor impacto sobre este recurso, debido a que este es el de más fácil acceso por encontrarse en la zona intermareal, y no requiere buceo para su extracción.

Dado que el abulón negro representa una proporción muy pequeña de la pesquería total de abulón, existen escasos estudios sobre su estado poblacional. En Bahía Tortugas, se realizó en el año 2002, un estudio de prospección donde solamente se encontraron cuatro organismos de 121 a 152 mm (Turrubiates y Reineke, 2003 citado por Sierra-Rodríguez *et al.*, 2006). Mientras que, en 2004, se realizó el proyecto “Evaluación y prospección de abulón negro en la costa occidental de la península de Baja California” con la finalidad de conocer la distribución espacial, la abundancia y la estructura de tallas del abulón negro. Se realizaron evaluaciones desde Calafia, B.C. hasta San Hipólito, B.C.S., encontrándose densidades de 0 a 0.005 individuos/m² en el norte y centro de Baja California y una densidad de 0.5 individuos/m² en Santa Rosalita. En B.C.S. la densidad fue menor, de 0 a 0.001 org/m², encontrándose las mayores densidades en Isla Guadalupe (Castro-Gonzales *et al.* 2005). Además, el 98% de los organismos encontrados presentaron tallas menores a la talla mínima legal para su extracción (98% < 120 mm) y sin presencia de signos de la enfermedad del SD. Evaluaciones más recientes, indican que algunas localidades de la costa de Baja California presentan signos de recuperación (Ibarra-Macías *et al.*, 2019). Aunque estudios histológicos preliminares han detectado que el patógeno causante del SD está presente (Valles- Ríos, 2000; Delgadillo-Anguiano *et al.*, 2019), los signos clínicos característicos de esta enfermedad no son evidentes en las poblaciones naturales (Ibarra-Macías *et al.*, 2019).

1.1.3. Biología del abulón negro

El abulón negro *Haliotis cracherodii* es un molusco gasterópodo que se distribuye en la zona intermareal y somera submareal, de los 0 a 6 metros (Booolootian *et al.*, 1962; Cox, 1962; Ault, 1985). El macho y la hembra se distinguen cuando están completamente maduros, ya que, las gónadas toman un color distintivo para cada sexo, la gónada masculina toma un color entre blanco y amarillo y la femenina un color verde, estos, segregan las células sexuales al medio para ser fertilizadas (Webber y Giese, 1969). La temporada de desove puede extenderse de junio a octubre (Booolootian *et al.*, 1962; Leighton y Booolootian, 1963; Webber y Giese, 1969). Posterior a la fertilización, los huevos se van al fondo, y después de unas horas eclosiona una larva trocófora que después se convierte en larva veliger. En estas dos fases, las larvas atraviesan por una etapa planctónica, donde se transportan verticalmente por las corrientes oceánicas

hasta encontrar un sustrato rico en diatomeas y asentarse; posteriormente los juveniles comienzan a alimentarse de la película de microalgas adherida a las rocas (Figura 4). El abulón negro puede alcanzar una talla de 26-30 mm durante su primer año de vida con una tasa de crecimiento calculada de 2.2 a 2.5 mm/mes. Y durante los siguientes 4 a 5 años, el abulón crecerá 20 mm anualmente, disminuyendo su tasa de crecimiento a alrededor de 1.7-1.5 mm/mes (Leighton y Boolootian, 1963; Figura 5A). Se ha estimado que organismos de entre 50-55 mm de longitud de concha tienen alrededor de 2 años, si las condiciones de vida son ideales, y que los adultos alcanzan la madurez sexual a los 38 a 50 mm de longitud de concha (<https://www.fisheries.noaa.gov/species/black-abalone#description>). Sin embargo, después del quinto año, el crecimiento no es lineal y se vuelve impredecible (Haaker *et al.*, 1995), ya que, la tasa de crecimiento disminuye considerablemente (< 1 mm/mes) en abulones mayores a 130 mm (Leighton y Boolootian, 1963). Por otra parte, se estima que el abulón negro puede vivir hasta 30 años, y que abulones mayores a 100 mm pueden tener más de 20 años. Sin embargo, las tasas de crecimiento pueden variar entre sitios y abulones de talla similar. En el trabajo realizado por Leighton y Boolootian (1963) en dos localidades de Pt. Dume, las tasas de crecimiento variaron de 0.5 a 2.6 mm/mes en organismos de tallas de 34 a 125 mm; mientras que en Palos Verdes estas variaron de 0 a 1.62 mm/mes en organismos de entre 30 a 71 mm (Figura 5B). Raimondi y colaboradores (2002) sugieren un rango de tamaño para juveniles (< 50 mm), subadultos (60-90 mm), adultos (91-120 mm) y abulones de talla comercial (> 120 mm). Mientras que, Chambers *et al.* (2006) considera adultos a organismos mayores a 95 mm, que pueden tener más de seis años de vida. Y otros autores sugieren que, debido a la variación temporal en el crecimiento, el tamaño no es una medida confiable de la edad (Morris *et al.*, 1980)

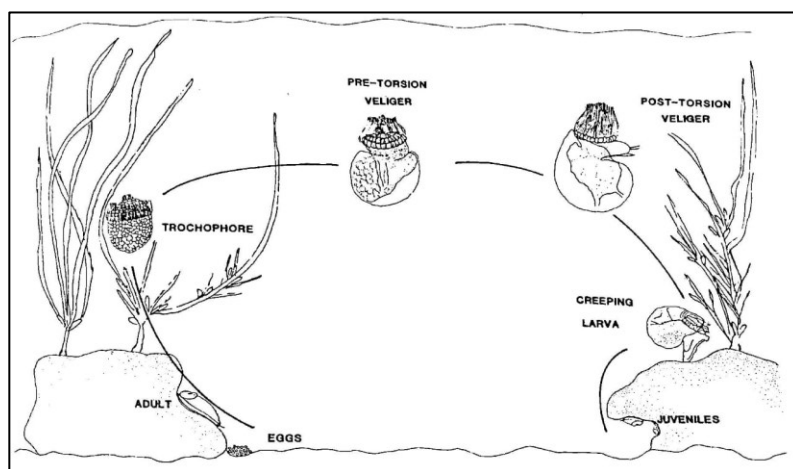


Figura 4. Ciclo de vida de gasterópodos del género *Haliotis* (Shepherd *et al.*, 1992).

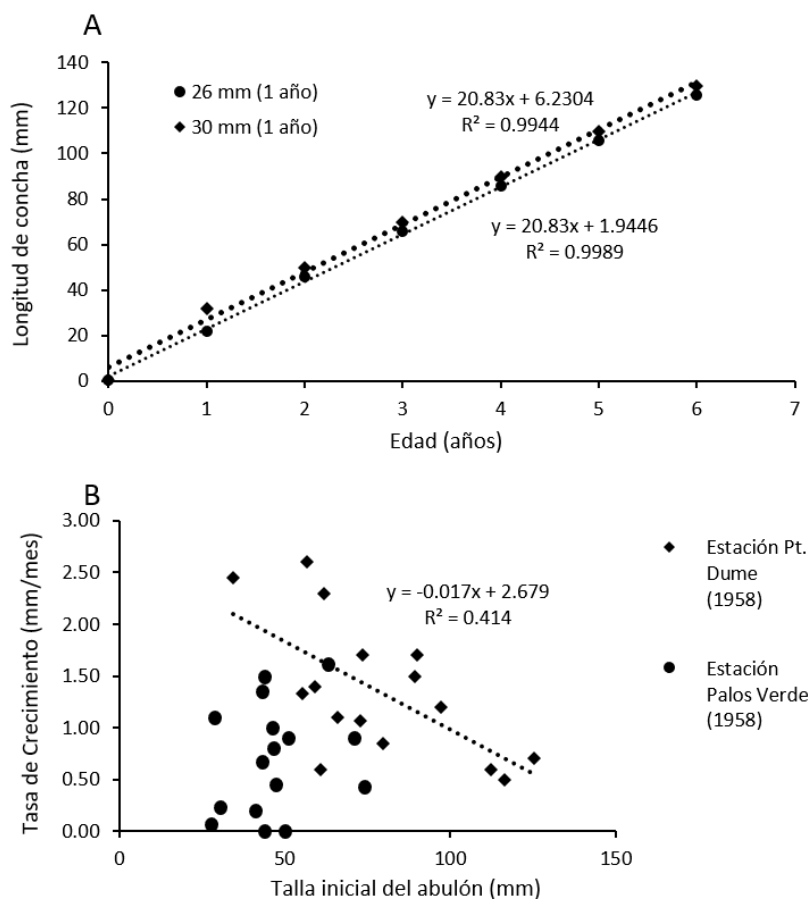


Figura 5. A) Curva de crecimiento del abulón negro durante sus primeros seis años de vida y B) relación de tasas de crecimiento y la talla inicial del abulón en dos localidades de California EE. UU. (generadas con observaciones de Leighton y Boolootian, 1963).

1.1.4. Taxonomía del abulón negro

Taxonómicamente, se reconocen dos subespecies de abulón negro: *Haliotis cracherodii cracherodii* (Leach, 1814) que se encuentra distribuido en la zona continental; y *H. cracherodii californiensis* (Swainson, 1822) que solamente se ha reportado en la Isla Guadalupe, México) (Bartsch, 1940; Geiger y Owen, 2012). Sin embargo, Geiger y Poppe (2000) consideran esta subespecie una forma que no necesita ser reconocida taxonómicamente. Asimismo, Butler *et al.* (2009) afirman que todas las subespecies descritas de abulón negro corresponden a variedades que presentan ecomorfos o ejemplos de deformaciones en las conchas y son sinónimos de una sola especie *H. cracherodii*. Geiger y Owen (2012), sugieren que para aclarar su incertidumbre taxonómica se requieren realizar estudios de genética poblacional entre las localidades de esta isla y del continente. Sin embargo, hasta hoy no hay información adicional que permita cambiar esta clasificación (NMFS, 2018). El abulón de la costa, *Haliotis cracherodii cracherodii* (Figura 6A) llega a medir hasta 216 mm, posee una concha ovalada, arqueada y pesada, su coloración puede variar de azul y verde

oscuro a negro, del lado izquierdo de la concha tiene ubicado los poros respiratorios, generalmente de 5 a 8 poros abiertos. Esta subespecie se distribuye desde la costa norte de California hasta Baja California, México (Geiger y Owen, 2012). Mientras que, la subespecie *Haliotis cracherodii californiensis* (Figura 6B) es más pequeña, llegando a medir máximo 180 mm, y tiene un mayor número de poros respiratorios abiertos (9 a 16). Además, su distribución ha sido reportada solamente en Isla de Guadalupe, Baja California, México (Bartsch, 1940; Geiger y Owen, 2012).

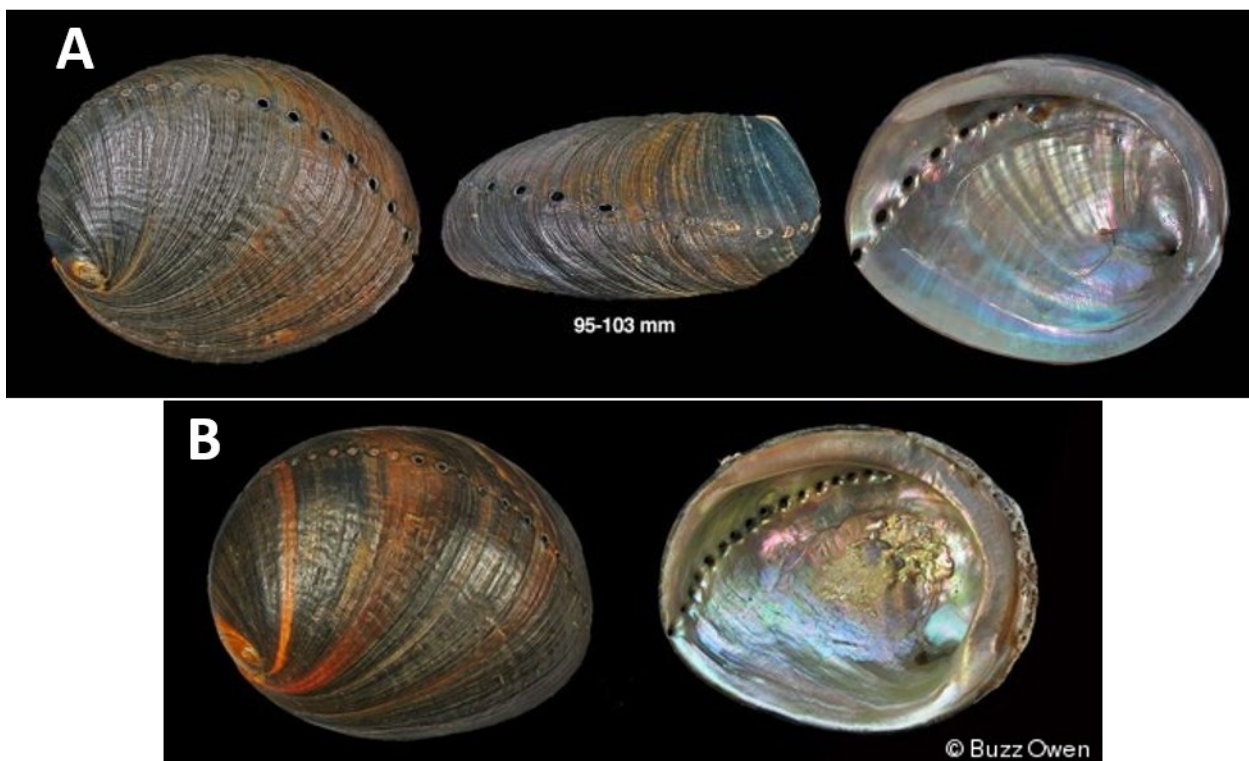


Figura 6. Conchas de abulón negro A) *H. cracherodii cracherodii* colectado en la zona intermareal de la Jolla, CA. (100.3 mm, 1951) y B) *H. cracherodii californiensis* colectado en la zona intermareal de Roca Elefante y West Anchorage en Isla Guadalupe, B. B., México (97.4 y 110.3 mm, respectivamente) (Geiger y Owen, 2012).

1.1.5. Estudios genéticos del abulón negro

En California, EE. UU. existen tres estudios que han evaluado la estructura genética poblacional del abulón negro *H. cracherodii* (Tabla 2). El primer estudio fue el realizado por Hamm y Burton (2000), en el cual, se muestrearon siete localidades ubicadas entre los condados de Santa Cruz y Santa Bárbara a lo largo de la costa central de California, para estimar los parámetros genéticos entre poblaciones donde la especie aún era moderadamente abundante para esos años (1997 y 1998).

Este estudio se realizó con tres alozimas (GPI, AAT-1 y PGM; $n=400$) y la secuencia parcial del gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I (COI; $n=51$ en cinco localidades). Encontrando diferencias significativas en las frecuencias alélicas entre sitios con los tres loci examinados y un valor de F_{ST} significativo entre pares de 0.009 a 0.054 (promedio 0.039). En este estudio no se observó una relación entre las distancias genéticas y geográficas en los 300 km de rango de muestreo, pero lugares con una proximidad de 12 km de distancia no presentaron diferencias, sugiriendo una dispersión y un flujo génico efectivo en esa escala espacial. Los resultados sugieren bajos niveles de dispersión larval entre localidades distantes (300 km) y una alta retención larval en las localidades evaluadas. En el caso del gen COI no se observó evidencia de diferenciación entre localidades en el abulón negro de la costa central de California.

Posteriormente, Chambers y colaboradores. (2006) evaluaron la estructura genética de poblaciones de abulón negro entre once localidades de la costa central continental (Carmel Point, Scott's Creek y Vandenberg) y las islas del sur de California (Islas San Miguel, Santa Rosa, Santa Cruz y San Nicolás) usando cinco alozimas ($n=491$ muestras). Entre las localidades de la costa central y las islas se encontraron diferencias genéticas bajas pero significativas ($F_{ST}=0.008$). Además, se observaron alelos exclusivos en las localidades de las islas que no estaban presentes en las localidades de la costa. Asimismo, entre las poblaciones de las islas se observaron diferencias; sin embargo, más débiles que las observadas con las poblaciones costeras. Estos datos son consistentes con el reclutamiento local debido a un mayor flujo génico entre las localidades de las islas que entre las islas y la costa. Además, el análisis entre cohortes mostró que los adultos (abulones > 95 mm, > 5 años) entre las localidades de las islas (San Miguel, Santa Cruz y San Nicolás) son genéticamente diferentes, mientras que no se detectaron diferencias entre los juveniles (abulones < 95 mm, de 2-5 años). Los autores argumentan que estas diferencias genéticas entre adultos pueden estar relacionadas con las mortalidades masivas ocurridas en estas islas, y el hecho de que se trate de organismos que sobrevivieron a estas condiciones (poblaciones remanentes). Así como una posible selección actuando sobre los reclutas inmigrantes.

En 2008, Gruenthal y Burton usando secuencias parciales del gen mitocondrial COI, cuatro marcadores microsatélites heterólogos (desarrollados para abulón pinto de Alaska) y AFLPs, evaluaron los niveles de conectividad entre poblaciones de abulón negro de la costa central de California y cuatro de las islas sur de California (Islas San Miguel, Santa Rosa, Santa Cruz y San Nicolás) con un total de 588 muestras. Los resultados con COI ($n=238$) y en 142 marcadores AFLP ($n=156$) muestran divergencia global significativa entre las poblaciones ($F_{ST}=0.044$). Mientras que el locus microsatélite *Hka28* y los datos de AFLP muestran divergencia significativa en múltiples comparaciones pareadas entre poblaciones, exhibiendo señales de aislamiento por distancia. Los autores puntualizan que las divergencias genéticas entre poblacionales

observadas sugieren que la dispersión larval es restringida, y que la recuperación natural de las poblaciones severamente impactadas es poco probable de ocurrir en un futuro cercano. Los datos de Gruenthal y Burton (2008) son consistentes con los reportados previamente por Hamm y Burton (2000) y Chambers *et al.* (2006), en este sentido, indicando un flujo genético restringido entre localidades. Estos autores concluyen que las poblaciones de abulón negro en la costa de California no son panmícticas, es decir, no se aparean al azar, y que la dispersión larval no es suficiente para homogeneizar genéticamente a la especie en el rango evaluado.

Más recientemente, Beldade *et al.* (2012) aisló y caracterizó ocho marcadores microsatélite especie específicos, y evaluó su polimorfismo en dos localidades de la costa de California (Andrew Molera y Point Arguello). Encontrando alto polimorfismo, altos valores de heterocigosidad esperada y desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg. Sin embargo, no encontró diferencias genéticas significativas entre las localidades evaluadas, aún y cuando una de ellas, Point Arguello, fue fuertemente impactada por el SD a mediados de los años 90's y no mostraba signos de recuperación a la fecha de este estudio y poco o casi nada de reclutamiento. Mientras que la otra localidad, Andrew Molera, no fue afectada por el SD y ha presentado reclutamiento continuo en el mismo periodo de tiempo.

Tabla 2. Resumen de los estudios genéticos publicados de abulones nativos del Noreste del Pacífico Norte.

Técnicas	Resumen	Autores
Alozymas (GPI, PGM, AAT-1) 400 muestras Gen COI (mtDNA) 51 muestras	Genética poblacional en la costa central de California Siete localidades: Scotts Creek, Asilomar, Carmel Point, Big Creek, San Simeon, Cambria y Vandenberg MER Año de colecta 1997 y 1998 Tallas de muestreo 3-25 cm <u>Distancia máxima entre localidades de 300 km</u> $F_{IS} = -0.017, 0.124$ y 0.269 $F_{ST} = 0.009, 0.032$ y 0.054 (promedio 0.039)	Hamm y Burton, 2000
Alozymas (TPI-1, PGM-1, GPI-1, AAT-1, MEP-1) – 491 muestras	Estructura genética entre localidades de la costa central de California e islas del sur Once localidades Centro: Carmel Point, Scotts Creek y Vandenberg Islas: San Miguel, Santa Rosa, Santa Cruz y San Nicolás Año de colecta centro: 1997 y 1998 Año de colecta islas: 2003 y 2004 <u>Distancia máxima entre localidades de 341 km</u> $F_{IS} = 0.112$ global (rango -0.006 a 0.173) entre todas $F_{ST} = 0.008$ global (rango -0.003 a 0.018) entre todas $F_{ST} = 0.012$ (AMOVA, dos grupos: Islas vs continente)	Chambers <i>et al.</i> , 2006
Microsatélites heterólogos (4, <i>Hka</i> , $n = 588$), mtDNA (COI, $n = 238$) y AFLPs ($n = 156$)	Estructura genética entre localidades de la costa central de California e islas del sur Once localidades: Scotts Creek, Asilomar, Monterey, Carmel Point, Big Creek, Cambria y Vandenberg, Islas San Miguel, Santa Rosa, Santa Cruz y San Nicolás Año de colecta centro: 1997 y 1998 Año de colecta islas: 2002 <u>Distancia máxima entre localidades de 750 km</u> $F_{IS} = 0.517$ global (rango 0.074 a 0.776) entre todas $F_{ST} = 0.044$ global (rango -0.014 a 0.019) entre todas $F_{ST} = 0.019$ (par de localidades Islas vs continente)	Gruenthal y Burton, 2008
Microsatélites especie-específicos (8; <i>HCH</i> , $n = 41$)	Desarrollo de marcadores moleculares microsatélite especie-específicos para abulón negro Dos localidades: Andrew Molera y Point Arguello Año de colecta: entre 2006 Librería genómica realizada con un abulón colectado en Año Nuevo, California, EE. UU. <u>Distancia máxima entre localidades de 239 km</u> $F_{IS} = 0.263$ global (rango -0.085 a 0.593) entre todas	Beldade <i>et al.</i> , 2012

1.1.6. Marcadores moleculares tipo microsatélite para estudios de genética poblacional

Los microsatélites también llamados SSR o STR, son fragmentos cortos repetidos en tándem, se encuentran distribuidos en todo el genoma y generalmente en zonas no codificantes de este, aunque pueden existir en menor proporción en regiones codificantes (SSR-EST). De acuerdo con las repeticiones, los microsatélites se clasifican en dinucleótidos (TA), trinucleótidos (TGA), tetranucleótidos (TAGA) y pentanucleótidos (TAGAG). Además, son de diferentes longitudes (5 a 40 repeticiones). Estos marcadores son muy informativos, presentan gran polimorfismo, son co-dominantes y tienen selección neutra. Así mismo, son muy utilizados, ya que, son considerados sencillos de manipular, con 100% de veracidad y altamente reproducibles. Para localizar a los marcadores microsatélites, se generan primers hibridan a los extremos del microsatélite. Generalmente, estas zonas flanqueantes no sufren de mutaciones, por lo tanto, se pueden utilizar en organismos del mismo género (Becerra *et al.*, 2000; Claria *et al.*, 2001; Yáñez *et al.*, 2003; Aranguren-Méndez *et al.*, 2005; Fortes, 2008).

La diferencia de tamaño en cada SSR se debe a que la polimerasa puede tener fallos durante el proceso de replicación del DNA, esto apila errores que suman o restan a la secuencia, se calcula que este polimorfismo en cuanto a longitud es de 10^{-2} hasta 10^{-5} . La amplificación de estos SSR se puede realizar mediante la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), creando primers que se peguen en los extremos de la secuencia. Se pueden encontrar tres tipos de microsatélites, los SSR perfectos, es decir, se repiten cierto número de nucleótidos sin interrupciones, los SSR compuestos, es decir, la secuencia contiene dos o más repeticiones y por último los SSR interrumpidos, esto quiere decir que hay de 1 a 4 nucleótidos juntos, que separan las repeticiones en la secuencia (Ellegren, 2004).

Uso de microsatélites

Los marcadores microsatélite se pueden utilizar en la genética poblacional, para detectar pérdida o ganancia de variabilidad genética, también para identificar o discriminar entre especies, igualmente se usa para pruebas de paternidad en acuicultura, ya que estos SSR se heredan de generación en generación, además se pueden hacer cruza entre organismos que posean microsatélites codificantes para una característica deseada (Ferreira y Grattapaglia, 1998).

Ya se han realizado análisis poblacionales utilizando microsatélites. Se utilizaron en la especie de abulón *Haliotis discus hannai*, para evaluar la diversidad genética entre organismos cultivados y organismos silvestres. En este estudio, se encontró mayor número alelos en las poblaciones silvestres, es decir, mayor variabilidad genética en poblaciones silvestres que en organismos cultivados. Así mismo, que los cuellos de botella en una población se pueden provocar al introducir organismos de acuicultura con menor

variabilidad genética. Se concluye que, los microsatélites son necesarios para caracterizar una población, con el objetivo de detectar y aumentar la variabilidad genética bajo condiciones de cultivo (Li *et al.*, 2004).

En cuanto a los análisis parentales, los microsatélites son ampliamente utilizados para estimar el grado de fecundidad de los reproductores, mantener el pedigrí de una especie para la reproducción selectiva, así como, aumentar la variabilidad genética en un organismo y en la población. En un experimento, donde se realizaron cruas del abulón *Haliotis asinina*, reveló que uno solo de los reproductores era el progenitor de la mayoría de las larvas (>80 %), dando como resultado un reducido número de alelos en las crías, por lo tanto, baja variabilidad genética en la población. Con esto se confirma la importancia de los marcadores microsatélite como control de cruas, ya que, con el conocimiento de los SSR que hay en cada organismo y en la población, se puede mantener la diversidad genética y conocer la descendencia de los individuos (Selvamani *et al.*, 2001).

En cuanto análisis poblacionales, Córdova-Secundino (2018) evaluó seis poblaciones silvestres de abulón rojo (*Haliotis rufescens*) y cinco lotes de cultivo de Baja California, México y California, EE. UU. Encontró mayor diversidad alélica (riqueza alélica), variabilidad genética y heterocigosidad observada en las poblaciones silvestres. En cambio, en los lotes de cultivo se mostraron altos índices de endogamia, también, identificó la presencia de homocigotos en exceso. Concluyendo que, los marcadores moleculares más informativos se pueden utilizar para diversos análisis (análisis antes mencionados), con el fin de enriquecer las poblaciones silvestres y lotes de cultivo, así como, controlar el parentesco en cultivos acuícolas y realizar selección para obtener mejores resultados en producción.

1.2. Justificación

En California, *H. cracherodii* está considerado una especie en peligro, y los resultados de estudios genéticos realizados entre localidades de California sugieren una dispersión larval restringida y poca probabilidad de que las poblaciones se recuperen naturalmente como consecuencia del bajo flujo genético entre ellas, ocasionado por las condiciones oceanográficas de estas zonas y las estrategias reproductivas de la especie. En México, el recurso abulón negro tiene un valor socioeconómico y ecológico muy alto. Sin embargo, son pocos los estudios que se han orientado a evaluar su diversidad y estructura genética poblacional. A pesar de su importancia y a que en años recientes se ha evidenciado en algunas localidades una recuperación natural en las costas de Baja California, no existe información genética básica del recurso y se desconoce la conectividad entre las poblaciones. Por lo que conocer la diversidad, estructura y conectividad genética

entre las poblaciones remanentes de abulón negro en aguas mexicanas permitirá establecer estrategias de manejo y conservación de este. Gracias a su recuperación natural, el abulón negro ha vuelto a ser explotado en una localidad de Ensenada en los últimos tres años (2017-2019), por ello es necesario generar conocimiento (información genética base), que permita conocer el estado genético del recurso y proponer las estrategias de manejo y conservación. Asimismo, este conocimiento permitirá plantear estrategias de reproducción, selección de crías, mejoramiento genético y producción por acuicultura sustentables.

1.3. Hipótesis

Dado que el abulón negro presenta un temporada de reproducción muy estrecha en el año (julio-octubre) y que tiene una restringida dispersión larval (300 km), existirán diferencias genéticas significativas entre las localidades costeras de California y Baja California.

Debido a los patrones de circulación oceánica particulares aledaños a las islas, el abulón negro de las localidades insulares presentará diferencias genéticas respecto a las localidades costeras.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Caracterizar genéticamente el recurso abulón negro (*Haliotis cracherodii*) en la costa Pacífico de Baja California, México.

1.4.2. Objetivos específicos

1. Generar el primer banco de muestras del recurso *Haliotis cracherodii* en Baja California, México para estudios genéticos y genómicos.
2. Describir la diversidad genética del abulón negro (*Haliotis cracherodii*) en la costa de Baja California, México, usando marcadores microsatélite especie-específicos.

3. Determinar el grado de diferenciación y estructura genética entre seis localidades costeras y dos insulares del abulón negro (*Haliotis cracherodii*), desde el sur de California, EE. UU. hasta la costa central de Baja California, México.

Capítulo 2. Metodología

2.1. Área de estudio

Para cumplir con los objetivos del presente trabajo, se establecieron seis localidades costeras y dos insulares de muestreo de abulón negro (*Haliotis cracherodii*), desde el sur de California, EE. UU. hasta la costa central de Baja California, México (Figura 7). De norte a sur las localidades costeras muestreadas fueron Andrew Molera (CAM), Point Arguello (CAR), Bajamar (BJM), Saldamando (SLM), Punta Banda (PBD) y Faro San José (FSJ); mientras que las dos localidades insulares muestreadas fueron Isla Todos Santos (ITS) e Isla Guadalupe (IGP).

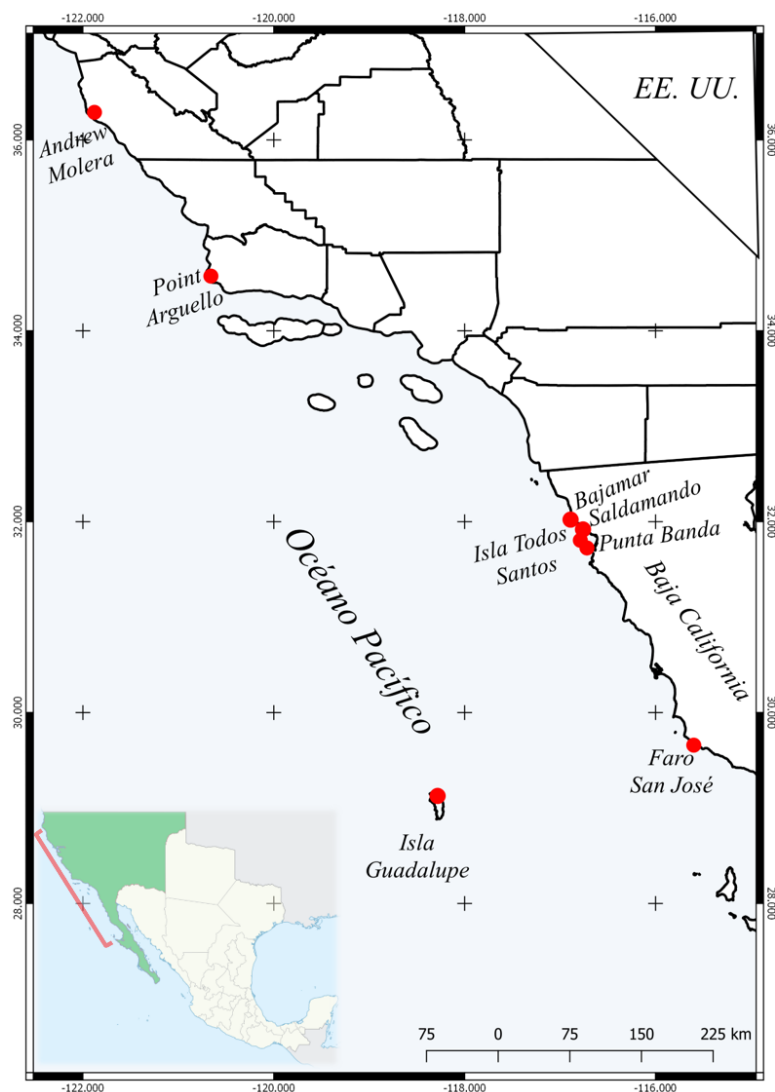


Figura 7. Localidades de abulón negro *Haliotis cracherodii* utilizadas para este estudio.

Los genotipos de las dos localidades de California, EE. UU., fueron proporcionadas por el Dr. Giacomo Bernardi del Departamento de Ecología y Biología Evolutiva de la Universidad de California Santa Cruz a partir de muestras genéticas colectadas en el año de 2006 (Beldade *et al.*, 2012). Mientras que, las muestras de material genético (DNA) de Isla Guadalupe, obtenidas en el año 2013, fueron proporcionadas por el Dr. John Hyde del Southwest Fisheries Science Center de la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). Por otra parte, el resto de las muestras de Baja California fueron colectadas durante campañas realizadas de 2017 a 2018 (Tabla 3). Para ello, en cada localidad se trazó un cuadrante máximo de 60 m (paralelo a línea de costa) por 20 m (perpendicular a línea de costa) en el área intermareal, el cual se recorrió durante la marea baja. En las localidades de BJM y SLM se colectaron los organismos completos y se transportaron al laboratorio, donde se separaron las branquias mediante una incisión (muestreo destructivo; proyecto INAPESCA-CICESE). En el resto de las zonas (ITS, PBD, FSJ e IGP) la recolección fue no destructiva, se retiraron de 5 a 7 epipodios de cada organismo, se preservaron en tubos eppendorf de 1.7 ml con etanol al 96%; y finalmente, cada abulón se colocó nuevamente en la roca de donde fue recolectado. La talla de los abulones muestreados varió de 20 a 120 mm de longitud, abarcando organismos juveniles (<50 mm), sub-adultos (60-90 mm) y adultos (91-120 mm) según lo establecido por Raimondi *et al.* (2002). Las muestras fueron etiquetadas por zona y fecha de muestreo, se conservaron en frío durante su transporte, y una vez en el Laboratorio de Genética del Departamento de Acuicultura, se colocaron a -20°C hasta su procesamiento. En total, se obtuvieron 355 muestras de tejido (branquia o epipodio) de abulón negro (Tabla 3).

Tabla 3. Localidades de muestreo y número de muestras de abulón negro utilizadas en este estudio.

Año de muestreo	Localidades	Estado, País	Abreviación	Total de muestras (DNA)	Total de muestras genotipificadas
2006	Andrew Molera	California, EE. UU.	CAM	21	21
2006	Point Arguello	California, EE. UU.	CAR	20	20
2018	Bajamar	Baja California, México	BJM	91	30
2017	Saldamando	Baja California, México	SLM	105	30
2018	Punta Banda	Baja California, México	PBD	28	28
2018	Faro San José	Baja California, México	FSJ	30	30
2018	Isla Todos Santos	Baja California, México	ITS	30	30
2013	Isla Guadalupe	Baja California, México	IGP	30	30
Total				355	219

2.2. Extracción de DNA

Para realizar la extracción del material genético (DNA) se utilizó el kit comercial DNeasy® Blood y tissue de Qiagen, y se siguieron las instrucciones del fabricante. Antes comenzar la extracción, el tejido se cortó en trozos pequeños con tijeras de laboratorio. Posteriormente, cada muestra se dejó secar durante 20 min a temperatura ambiente con el propósito de eliminar el exceso de etanol. Una vez seco, se colocó el tejido en un mortero estéril y se procedió a macerar con ayuda de un pistilo utilizando nitrógeno líquido, con el fin de pulverizar lo más finamente posible el tejido para asegurar una adecuada lisis celular (paso siguiente). Una vez macerado el tejido, se pesaron entre 20 y 25 mg de los fragmentos obtenidos y se colocaron en tubos Eppendorf de 1.7 ml donde se realizó la lisis celular con Proteinasa K. Después, se siguieron los pasos necesarios para la purificación del DNA extraído con múltiples lavados de etanol del DNA en las columnas de retención de este; para finalmente recuperar el DNA en agua grado biología molecular (estéril y libre de Dnasas). En total, se obtuvo DNA de las 355 muestras colectadas de abulón negro (Tabla 3).

Para evaluar la pureza del DNA obtenido, se utilizó un espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Thermo Scientific®). Con él, se estimaron las razones 260/280, que indica la presencia de proteínas, y 260/230 que indica la presencia de otros solventes. Igualmente, fue estimada la concentración de DNA en nanogramos por microlitro (ng/μl) por absorbancia a 260 nm. Para poder valorar una muestra con calidad y pureza, los rangos normales de las razones deben de estar entre 1.8 a 2 nm (Desjardins y Conklin, 2010). Para obtener soluciones de DNA de trabajo, todas las muestras se diluyeron a una concentración de 50 ng/μl con agua grado biología molecular. Por otra parte, la calidad, en términos de integridad del DNA genómico, se evaluó por medio de electroforesis en gel de agarosa a 0.7 % de concentración por 80 min a 90 V, utilizando Super Buffer 1X (Zhang *et al.*, 2011). Las muestras se cargaron en el gel junto con un amortiguador de carga (6X) conteniendo la tinción de DNA Gel Red a 30X. El DNA obtenido fue finalmente visualizado por luz UV en un sistema de fotodocumentación (Gel Doc™ XR+) BIORAD y su tamaño fue determinado usando como referencia de peso un marcador de 10,000 pb marca Promega (G5711).

Adicionalmente, para verificar la calidad del DNA y corroborar que no existían inhibidores en las muestras, se realizó la amplificación parcial de los genes mitocondriales de la enzima *citocromo oxidasa I* (COI) y la *subunidad menor ribosomal* (16S rRNA), por la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés). Los primers utilizados para el gen COI (F1 TGATCCGGCTTAGTCGGAAGTGC; R1 GATGTGTTGAAATTACGGTCGGT) y 16S sRNA (AR CGCCTGTTTATCAAAAACAT; BR CCGGTCTGAACTCAGATCACGT) fueron descritos por Metz *et al.* (1998) y Kessing *et al.* (1989),

respectivamente. Los productos de PCR se corrieron en electroforesis en geles de agarosa al 2%, por 90 min a 100V, utilizando Super Buffer 1x (Zhang *et al.*, 2011). Las muestras se cargaron en el gel junto con un amortiguador de carga (6X) que contenía gel red (30X) y como referencia de peso molecular se usaron marcadores de 100 pb marca Promega (G2101) y Sigma (D3812) para corroborar el tamaño esperado en los fragmentos obtenidos (528 y 563 pb, para COI y 16S rRNA, respectivamente). Finalmente, los productos de PCR fueron visualizados por luz UV en un sistema de fotodocumentación Gel Doc™ XR+ de BIORAD.

2.3. Amplificación de marcadores microsatélite especie-específico

Para este estudio se utilizaron ocho marcadores microsatélites especie-específicos para abulón negro *H. cracherodii* (Tabla 4) que fueron desarrollados por Beldade *et al.* (2012) a partir de secuenciación genómica de una muestra proveniente de Año Nuevo, California. Los marcadores microsatélites HCH, son de acceso libre y se encuentran reportados el GeneBank con los códigos de acceso de EU781587 a EU781594 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Estos marcadores se sintetizaron en SIGMA-ALDRICH y las condiciones de PCR fueron estandarizadas en el Laboratorio de Genética Acuícola del Departamento de Acuicultura de CICESE. Para realizar la estandarización, se tomaron cinco muestras por localidad y se llevaron a cabo diversas pruebas de PCR, hasta obtener un producto del tamaño esperado, una buena concentración y sin presencia de bandas inespecíficas. Primeramente, se tomó como referencia las temperaturas de alineamiento calculadas a partir de las secuencias de los primers. Con la estandarización la mayoría de los microsatélites amplificaron exitosamente a 60°C, exceptuando el microsatélite HCH_A7, el cual <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> a 54°C (Tabla 4).

Tabla 4. Listado de marcadores moleculares microsatélites específicos para abulón negro (*H. cracherodii*) desarrollados por Beldade *et al.* (2012) y utilizados en este estudio.

Locus		Sentido	Secuencia	Motivo de repetición	Tamaño (pb)	T (°C)
HCH_A2	F	5' - 3'	TAACGCTTGACATCCATCC	(CA) ₃₉	275	60
	R	5' - 3'	AAGAAGATTTGCTGGTGAGTG			
HCH_A7	F	5' - 3'	TTCGGTGACTTCAACAGAAG	(CA) ₂₇	186	54
	R	5' - 3'	GCACTATAAATCGGCATCAG			
HCH_A11	F	5' - 3'	TAACGAGACATTGTGCATTATG	(CA) ₂₉	276	60
	R	5' - 3'	GGATGAAATGAAAGATGTGAGA			
HCH_A12	F	5' - 3'	ATCCTGTGAAGTGCATGTTC	(CA) ₆₇	295	60
	R	5' - 3'	CCTGCTGCTCCCCATATA			
HCH_B4	F	5' - 3'	TTTACCCAACCTCCAGATTG	(CATC) ₈	262	60
	R	5' - 3'	GCCAGGTTTCAATACTGATG			
HCH_B11	F	5' - 3'	GACGTGAAGAACAGCACAGAC	(CATC) ₁₂	275	60
	R	5' - 3'	ATGCAAGTTATGCAAGTTTGC			
HCH_C2	F	5' - 3'	CCAAGTCCTTGCCTAAATGTC	(TACA) ₂₉	220	60
	R	5' - 3'	GTGCATGTGTGTATGTGCAATA			
HCH_C8	F	5' - 3'	GTCGTTTCACACGTTCAATAAG	(TACA) ₂₈	239	60
	R	5' - 3'	GGTAGGAATTGGAGTCTCTCAA			

T: Temperatura de alineamiento de los primers.

Después de la estandarización y la verificación de la amplificación de los ocho microsatélites, se procedió a realizar las reacciones de PCR de las muestras por localidad seleccionadas para su genotipificación (Tabla 3). Cada reacción de PCR consistió en 1.2 µl de Buffer A (1X) con MgCl (1.5 mM) de KAPA BIOSYSTEM, 0.96 µl de dNTps (0.2 mM), 0.24 µl de cada primer a 0.2 µM, 0.1 U/µl de polimerasa KAPA Taq de KAPA BIOSYSTEM, 2 µl de ADN (100 ng) y 7.26 µl de agua grado biología molecular, para obtener un volumen de reacción final de 12 µl. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en los termocicladores T100 de BIO RAD y VERITI de APPLIED BIOSYSTEMS. El ciclo de PCR usado para siete microsatélites (A2, A11, A12, B4, B11, C2 y C8) en la mayoría de las localidades consistió en: una desnaturalización inicial a 94°C durante 2 min, y posteriormente 30 ciclos a 94°C - 30 s de desnaturalización, 60°C - 40 s de alineamiento, 72°C - 30 s de extensión; y finalmente al culminar los ciclos, una extensión final 72°C por 5 min. Para el microsatélite HCH_A7 la única condición que cambió fue la temperatura de alineación del primer (54°C) como se mencionó anteriormente.

En el caso específico de las muestras de DNA provenientes de la localidad de Isla Guadalupe (IGP), dado que presentaron concentraciones menores a los 50 ng/μl fue necesario aumentar el volumen de DNA usado (hasta 4 μl), así como los ciclos de 30 a 50 y el tiempo de la extensión final de 5 a 10 min. Para las muestras que no amplificaron en el primer PCR se realizaron dos rondas más de PCR, para descartar errores metodológicos y corroborar la presencia de alelos nulos en estas muestras. Los productos de PCR se corrieron en electroforesis en geles de agarosa al 2%, por 90 min a 100V, utilizando Super Buffer 1X (Zhang *et al.*, 2011). Las muestras se cargaron en el gel junto con un amortiguador de carga (6X) que contenía gel red (30X) y como referencia de peso molecular se usaron marcadores de 100 pb marca Promega (G2101) y Sigma (D3812) para corroborar el tamaño esperado en los fragmentos obtenidos. Finalmente, los productos de PCR fueron visualizados por luz UV en un sistema de fotodocumentación Gel Doc™ XR+ de BIORAD.

2.4. Análisis de fragmentos microsatélites

Una vez que se corroboró la amplificación de los microsatélites por medio de geles de agarosa, se realizó la electroforesis capilar de alta resolución (QIAxcel, QIAGEN) para determinar el tamaño de los alelos por muestra con una mejor resolución. Para la separación de los fragmentos se utilizó el método OL500, el cual muestra separaciones de 10 pb entre alelos que midan de 100 a 500 pb. Para la determinación de tamaños se utilizó un marcador de peso molecular de 50 a 800 pb y un marcador de alineamiento. La genotipificación consistió en generar una matriz, donde se registraron los tamaños alélicos de cada muestra por microsatélite y población a partir de los archivos de salida de este programa. Para asignar el tamaño de los alelos de cada muestra, se utilizaron de referencia los rangos alélicos reportados por Beldade *et al.* (2012), así como los motivos de repetición (di y tetranucleótidos) de los marcadores.

2.5. Análisis genético poblacional

La matriz de datos de los tamaños alélicos generada del genotipado de las muestras, se utilizó como base en el programa CREATE (Coombs *et al.*, 2008) para generar los archivos de entrada de los programas genéticos usados posteriormente para estimar la diversidad y estructura genética. Por otra parte, para detectar errores de captura en la asignación de alelos se utilizó el programa MICRO-CHECKER 2.2.3 (Oosterhout *et al.*, 2004). Se calculó la cantidad de individuos homocigotos esperados y observados en

cada población por microsatélite, y el porcentaje de alelos nulos mediante la fórmula $r = (H_e - H_o) / (1 + H_e)$ con el método de Brookfield (1996), el cual descarta que todos los homocigotos son alelos nulos, y que las muestras no amplificadas no son DNA degradado o por error metodológico.

2.5.1. Diversidad alélica

El programa GenAlex (Peakall y Smouse, 2012) fue utilizado para calcular las frecuencias alélicas, el total de alelos (N_a), alelos efectivos (N_e), los alelos privados (AP), la heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o) que hay en cada localidad por loci microsatélite. Mientras que, la riqueza alélica (R_a) y el coeficiente de endogamia (F_{IS}) por locus y localidad se estimaron con el programa genético FSTAT 2.9.3.2 con 1,000 iteraciones (Goudet, 2002). Para determinar si los valores de F_{IS} calculados fueron diferentes de cero ($F_{IS} = 0$; condición de panmixia, reproducción aleatoria) se realizó un análisis de permutaciones donde se determinó el valor de p, y considerando la corrección de Bonferroni (Rice, 1989) se determinó un valor de p crítico de 0.0065 (0.05/8). Por otra parte, el Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) se calculó con el programa GENEPOP 4.7 (Rousset, 2008) con 10,000 desmemorizaciones, 1,000 número de lotes y 10,000 iteraciones por lote; y su significancia con un valor de p ($p < 0.05$ = desequilibrio; $p > 0.05$ = equilibrio).

2.5.2. Diferencias genéticas y estructura poblacional

Las diferencias genéticas entre pares de localidades (F_{ST}) se calcularon con el programa ARLEQUIN 3.5.2.2 (Excoffier *et al.*, 2005). Estos valores fueron analizados para verificar si eran diferentes de cero, considerando el valor de p crítico (0.0065) de la corrección de Bonferroni (Rice, 1989). Con la finalidad de conocer la relación entre la distancia genética y la distancia geográfica entre las localidades estudiadas, se realizó la prueba de Mantel (Mantel, 1967) con 1000 permutaciones en el programa IBD (Isolation By Distance; Bohonak, 2002). Para esta prueba, se utilizaron las distancias genéticas F_{ST} entre pares de localidades y como distancias geográficas se utilizó una matriz de distancias en kilómetros entre pares de localidades. Con el fin de conocer la correlación entre F_{ST} y distancias geográficas(km), se emplearon cuatro transformaciones más a los datos de F_{ST} y distancias geográficas en kilómetros:

1. F_{ST} linealizados $F_{ST} / (1 - F_{ST})$ entre distancias geográficas
2. F_{ST} entre logaritmo natural de distancias geográficas
3. F_{ST} linealizados $F_{ST} / (1 - F_{ST})$ entre logaritmo natural de distancias geográficas
4. Logaritmo natural de F_{ST} entre logaritmo natural de distancias geográficas

Además, se calcularon los valores de distancias genéticas de Cavalli-Sforza y Edwards (*Dc*, 1967) entre localidades, utilizando el modelo del vecino más cercano (*Neighbor Joining*) y 1,400 repeticiones con el programa POPULATION 1.2.32 (Langella, 2007). Con estas distancias, se generó un dendrograma con el programa FIGTREE 1.4.3 (Rambaut y Drummond, 2012) para evaluar las agrupaciones de las localidades dentro del área de estudio.

Para determinar la estructura poblacional, se utilizó el programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000) que agrupa a los individuos de acuerdo con sus frecuencias alélicas usando un modelo Bayesiano, y permite determinar el número de componentes genéticas (K) dentro del área de estudio. En el análisis exploratorio de STRUCTURE se utilizó el total de localidades con un valor de K = 9, 20 iteraciones por cada K, un *burn-in* de 500 mil y un número de MCMC después del *burn-in* de un millón. Posteriormente, estos resultados se analizaron con el programa STRUCTURE HARVESTER (Earl y VonHoldt, 2012), que nos permite determinar el número de componentes genéticas (K) más probable en el área de estudio a través de la prueba de Evanno que establece el valor de Delta K (valor máximo con menor desviación estándar; Evanno *et al.*, 2005). Este valor se utilizó para correr nuevamente el programa STRUCTURE con K = 4, 20 iteraciones por cada K (*burn-in* de 500 mil y un millón de repeticiones) con un modelo Admixture, que contempla la influencia genética de los antecesores permitiendo que más de un grupo genético contribuya al genoma de cada individuo.

Asimismo, con el programa ARLEQUIN 3.5.2.2 (Excoffier *et al.*, 2005), se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) para evaluar la distribución de la variación genética, agrupando las localidades según la estructura genética resultante del programa STRUSCTURE, esto es en tres grupos, el primero con las localidades de California, el segundo con las localidades de Baja California y el tercer grupo solamente con Isla Guadalupe, además, se aplicaron 10,000 permutaciones en el cálculo.

2.5.3. Migración y cuello de botella

La tasa de migración pasada (ancestral), en términos de número de migrantes entre pares de localidades en el área de estudio, fue evaluada con el programa MIGRATE 3.6.11 (Beerli, 2004), utilizando el método de alelos infinitos con la estrategia de máxima verosimilitud. Adicionalmente, para evaluar si existe una reducción reciente en el tamaño efectivo poblacional, efecto de cuello de botella, se utilizó el programa BOTTLENECK 1.2.02 (Piry *et al.*, 1999) con 10,000 iteraciones.

2.6. Análisis estadístico

Para evaluar las diferencias entre las localidades de los parámetros genéticos poblaciones estimados, primero se realizaron las pruebas de normalidad de Shapiro Wilk y homocedasticidad de varianzas de Levene de las diferentes variables por población y por marcador microsatélite (porcentaje de alelos nulos, total de alelos, frecuencia alélica y alelos privados). Posteriormente, en aquellas variables que resultaron normales y homocedásticas, se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de significancia ($\alpha=0.05$). Al encontrarse diferencias significativas se realizó la prueba *a posteriori* de comparaciones múltiples de Tukey. Por otra parte, para las variables que no cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($\alpha=0.05$) y *a posteriori* de comparaciones múltiples de Dunn.

Se compararon los valores de coeficientes de endogamia mediante una prueba T-student.

Capítulo 3. Resultados

3.1. Extracción de DNA: calidad e integridad

Se logró una estandarización exitosa de la técnica de extracción de DNA a partir de branquias y epipodio de abulón negro de un total de 314 muestras colectadas en este estudio. La calidad del DNA obtenido presentó valores dentro del rango de 1.8 y 2 para las razones 260/280 (80%) y 260/230 (60%), que se consideran de buena calidad para su uso posterior en PCR (Desjardins y Conklin, 2010). Todas las muestras se mantuvieron en un tamaño de DNA genómico superior a los 10,000 pb (1Kb). La concentración promedio de DNA obtenido de branquia fue de 398 ng/μl con un rango de 6.8 a 553 ng/μl; mientras que de epipodio fue de 55 ng/μl (rango 0.1 a 247.1 ng/μl). Adicionalmente, para descartar la presencia de inhibidores de PCR, algunas muestras por localidad y el 100% de las muestras de IGP, fueron seleccionadas para ser amplificadas con los genes 16S y COI, dando resultados satisfactorios (Figura 8).

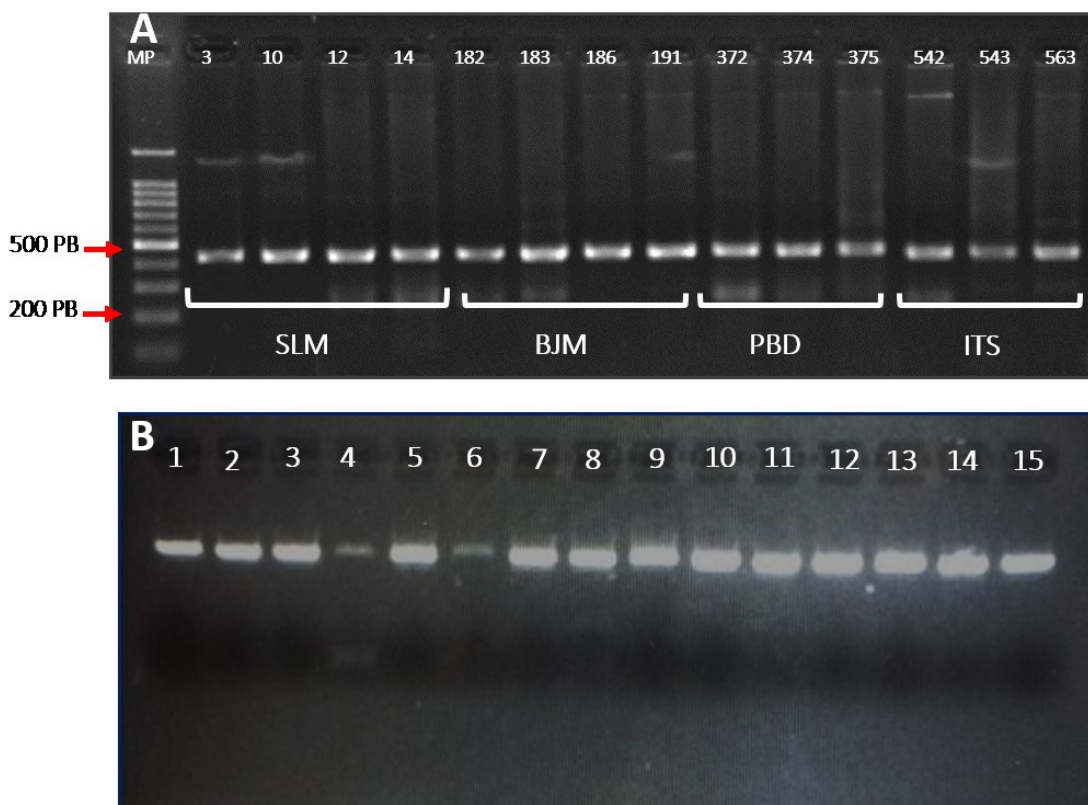


Figura 8. Electroforesis en gel de agarosa de los productos de amplificación del Gen COI (528 pb; Metz *et al.*, 1998) en muestras de las localidades de A) Saldamando (SLM: 3, 10, 12, 14), Bajamar (BJM: 182, 183, 186, 191), Punta Banda (PBD: 372, 374, 375), Isla Todos Santos (ITS: 542, 543, 563) y B) Isla Guadalupe (IGP, 1-15). Como referencia se usó un marcador de peso molecular (MP) de 100 pares de bases.

3.2. Amplificación de marcadores microsatélites especie-específicos

De las 314 muestras de DNA obtenidas en este estudio, sin incluir las correspondientes a California, dado que de estas se nos proporcionaron los genotipos, se eligieron 178 muestras para el su amplificación con los ocho marcadores microsatélites especie-específicos descritos en metodología. Los cuales después del proceso exitoso de estandarización de condiciones de PCR, se lograron visualizar en geles de agarosa al 2% (Figura 9). Las muestras que no amplificaron para algún locus en particular fueron usadas en uno o dos PCRs más para descartar errores metodológicos en su amplificación. La presencia de alelos nulos se evidenció en muestras que no pudieron ser amplificadas después de tres PCRs para un locus en particular.

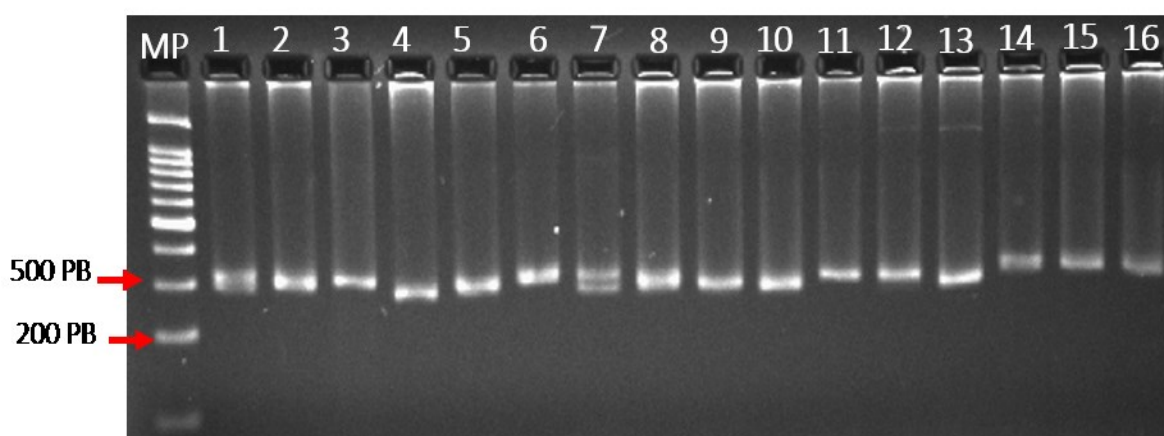


Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa de los productos de amplificación del microsatélite HCH_A11 (rango alélico entre 250 a 314 pb) en muestras de Punta Banda (PBD, 1-16). Como referencia un marcador de peso molecular (MP) de 100 pares de bases.

3.3. Análisis de fragmentos microsatélites

A partir del análisis de fragmentos realizado con electroforesis capilar de alta resolución (QIAxcel, QIAGEN), se obtuvieron los archivos de datos que contienen: gel virtual, electroferogramas (Figura 10) y datos de la concentración y tiempo de detección de los picos. La asignación de alelos por individuo se generó evaluando cada muestra en sus ocho loci, y registrando el tamaño de los alelos presentes. La matriz de genotipos inicial fue ajustada tomando como referencia el tamaño del motivo de repetición y los rangos alélicos por locus reportados por Beldade *et al.* (2012).

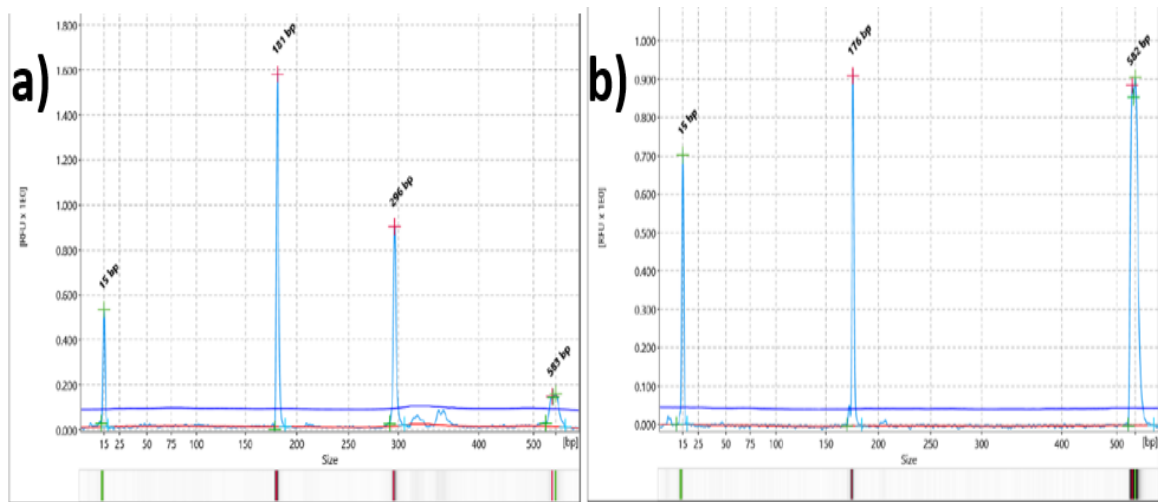


Figura 10. Electroferogramas resultantes del análisis de fragmentos con electroforesis capilar de alta resolución: a) organismo heterocigoto (presencia de dos alelos) y b) organismo homocigoto (presencia de un alelo).

3.4. Análisis genéticos poblacional

Para cada localidad se calcularon los parámetros de genética poblacional que describen el estado genético de la especie. Por lo cual a continuación se describirán estos por localidad, para posteriormente hacer un análisis entre localidades de estos parámetros.

3.4.1. Diversidad alélica en localidades de California, EE. UU.

Como se mencionó en la metodología, los genotipos de las localidades de California fueron proporcionados por el Dr. Giacomo Bernardi del Departamento de Ecología y Biología Evolutiva de la Universidad de California Santa Cruz a partir de muestras genéticas colectadas en el año de 2006 (Beldade *et al.*, 2012). Sin embargo, cabe resaltar que estos fueron usados de referencia inicial en la asignación de alelos de las localidades de Baja California, y posteriormente también fueron ajustados según los datos nuevos y pudieran ser comparativos.

3.4.1.1. Andrew Molera, California (CAM)

La localidad más nortea considera en este estudio fue Andrew Molera, CA, EE. UU., denominada CAM, de donde se obtuvieron un total de 21 genotipos. El número total de alelos en los ocho loci evaluados fue de 132, con 91 alelos efectivos, 113 alelos en R_a y 3 alelos privados. Con un promedio de N_a de 17 alelos

por locus (rango 12 a 22) y N_e de 17 alelos por locus (rango 11 a 25). Mientras que, la riqueza alélica promedio fue de 14 alelos por locus; el locus con mayor riqueza alélica fue el HCH_A2 con 18 alelos y HCH_B11 con la menor riqueza con 11 alelos. Se identificaron un total de tres alelos privados, uno en locus HCH_A2 y dos en HCH_A11. La H_o fue 0.778 ($DE=0.168$) y la H_e de 0.909 ($DE=0.017$), la cual en la mayoría de los casos fue significativamente diferente, evidenciando un déficit de heterocigotos. A excepción del locus HCH_A11, HCH_B4 y HCH_B11, este último con un 100% de heterocigotos observados. El coeficiente de endogamia (F_{IS}) promedio fue de 0.227 ($DE=0.166$), que muestra una tendencia media a la endogamia (Anexo A, Tabla 12).

3.4.1.2. Point Arguello, California (CAR)

En la localidad de Point Arguello, CA, EE. UU. (CAR), se analizaron 20 muestras. El número total de alelos en los ocho loci evaluados fue de 132, con 89 alelos efectivos, 112 alelos en R_a y 2 alelos privados. En promedio, se identificaron 17 alelos por locus (rango 11-21) y 11 alelos efectivos por locus (rango 6-16). La riqueza alélica en promedio fue de 14 ($DE=6$). Se identificó un alelo privado en los loci HCH_A2 y A12. Asimismo, la H_e fue de 0.897 ($DE=0.041$), mientras que la H_o fue de 0.729 ($DE=0.175$), evidenciándose un desequilibrio de Hardy-Weinberg por déficit de heterocigotos en siete de los ocho loci estudiados. El valor promedio de F_{IS} fue de 0.303 ($DE=0.154$; rango 0.118-0.591), mostrando una endogamia media (Anexo A, Tabla 13).

3.4.2. Diversidad alélica en localidades de Baja California, México.

Como se mencionó en la metodología, las muestras de Baja California fueron colectadas para este estudio entre los años de 2017 y 2018. Por otra parte, el material genético (DNA) de Isla Guadalupe fue proporcionado por el Dr. J. Hyde de la SWFSC-NOAA, y corresponde a muestras obtenidas en el año 2013. A continuación, se hará la descripción de la diversidad de estas localidades.

3.4.2.1. Bajamar (BJM)

La localidad de Bajamar (BJM) corresponde a la localidad más norteña en México, y se encuentra a 752 km de CAM y 513 km de CAR. Se analizaron 30 muestras y se identificaron un total de 188 alelos, 142 alelos

efectivos y 135 en riqueza alélica. Identificándose en promedio 24 alelos por locus (rango 15-37) y 18 alelos efectivos por locus (rango 9-33). En esta localidad en total se identificaron 15 alelos privados, en seis de ocho loci estudiados. El microsatélite que presentó el mayor número de AP fue el locus HCH_A12 con 8 alelos. La media de la H_e fue de 0.937 ($DE=0.937$) y H_o fue de 0.433 ($DE=0.216$), en todos los casos se observó un desequilibrio de Hardy-Weinberg por déficit de heterocigotos altamente significativo con valores de probabilidad por debajo de 0.001. El valor promedio de F_{IS} fue de 0.547 ($DE=0.229$, rango 0.165-0.896), mostrando una alta endogamia en esta localidad (Anexo A, Tabla 14).

3.4.2.2. Saldamando (SLM)

En Saldamando (SLM) se analizaron 30 muestras, donde se encontraron en total: 181 alelos, 127 alelos efectivos y 129 alelos en R_a . Se identificaron en promedio 23 alelos por locus (rango 16-34), 16 alelos efectivos (rango 9-26) y 16 en riqueza alélica (rango 13 a 21). Un total de 9 alelos privados se registraron distribuidos en siete de ocho locus. La H_e promedio fue igual a 0.932 ($DE=0.020$) y H_o promedio fue 0.425 ($DE=0.234$), siendo el locus HCH_A11 el que menos heterocigotos presentó ($H_e=0.946$; $H_o=0.033$). Todos los loci estuvieron en desequilibrio de Hardy-Weinberg por déficit de heterocigotos ($P<0.05$). El F_{IS} fue significativo en todos los microsatélites, mostrando una tendencia alta a la endogamia con un valor promedio de 0.553 (rango 0.228-0.966; (Anexo A, Tabla 15).

3.4.2.3. Isla Todos Santos (ITS)

La localidad de Isla Todos Santos (ITS) fue la primera localidad insular muestreada para el presente análisis, esta se encuentra frente y cercana a las localidades de BJM (43 km), SLM (24 km) y PBD (30 km). Donde se analizaron 30 muestras y se encontraron 182 alelos totales, 128 alelos efectivos y una R_a total de 127 alelos. En promedio se identificaron 23 alelos (rango 11-39), 16 alelos efectivos (rango 7-31), y 16 alelos en R_a (rango 9-23). Un total de 21 alelos privados se registraron distribuidos en seis de ocho locus evaluados, diez de los cuales estuvieron en el locus HCH_A12. En ITS, la H_e promedio fue de 0.928 ($DE=0.030$) y la H_o de 0.452 ($DE=0.246$). La localidad mostró tendencias a una alta endogamia, denotando un F_{IS} de 0.523 ($DE=0.257$, rango 0.165-0.929). La localidad no se encontró en EHW ($P<0.05$), mostrando un déficit significativo de heterocigotos en todos los locus evaluados (Anexo A, Tabla 16).

3.4.2.4. Punta Banda (PBD)

En la localidad de Punta Banda (PBD) se analizaron 30 muestras totales, pero el promedio las muestras genotipificadas fueron 28. Un total de 171 alelos, 120 alelos efectivos y una R_a de 127 alelos fueron detectados en esta localidad. En promedio, se identificaron 21 alelos por locus (rango 12-30), 15 alelos efectivos (rango 7-26) y una R_a de 16 alelos por locus (rango 10-21) en los ocho loci analizados. Se encontraron 19 alelos privados, de los cuales 10 son del locus HCH_A11. La H_e promedio fue de 0.922 ($DE=0.034$) y la H_o resultó de 0.390 ($DE=0.231$) mostrando un menor déficit de heterocigotos. La localidad mostró desviaciones significativas en el EHW y déficit de heterocigotos ($P<0.05$) en siete de los ocho loci evaluados. La media del F_{IS} fue de 0.588 ($DE=0.242$, rango 0.064-0.776) evidenciando una tendencia alta hacia la endogamia (Anexo A, Tabla 17).

3.4.2.5. Faro San José (FSJ)

La localidad de Faro San José se encuentra hacia el sur en la zona central de la Península de Baja California. De las 30 muestras obtenidas, se identificaron en total 170 alelos, 121 son alelos efectivos y 123 alelos en R_a . En promedio, 21 alelos por locus (rango 12-31), 15 alelos efectivos (rango 8-25) y 15 en R_a . Se identificó un total de 14 alelos privados en siete loci, con 7 alelos privados en el locus HCH_A12. La H_o promedio fue de 0.410 ($DE=225$), mientras que la H_e resultó en 0.926, indicando un déficit de heterocigotos en todos los loci analizados. Todos los microsatélites se caracterizaron por presentar desviaciones altamente significativas del EHW. El valor promedio de F_{IS} fue de 0.568 ($DE=0.236$, rango 0.220-0.886), siendo todos los valores significativamente diferentes de cero lo que demuestra una alta endogamia en la localidad (Anexo A, Tabla 18).

3.4.2.6. Isla Guadalupe (IGP)

Isla Guadalupe fue la segunda localidad insular muestreada en Baja California. En esta población se analizaron 30 muestras; sin embargo, se presentó una gran cantidad de datos perdidos por muestras que no amplificaron para alguno de los microsatélites evaluados aquí. Por tal razón, se eliminaron del análisis seis muestras que presentaron más de 4 loci con datos perdidos; así que, en promedio se analizaron 20 muestras (rango 14-24 por locus). En IGP se identificaron un total de 120 alelos, 89 alelos efectivos y 102 en R_a , además de 20 alelos privados distribuidos en siete loci de los ocho analizados. En promedio para

los ocho loci se identificaron 15 alelos (rango 9-22), 11 alelos efectivos (rango 3-19) y 13 en la riqueza alélica (rango 8-18). La H_e fue de 0.884 ($DE=0.081$) y la H_o de 0.129 ($DE=0.091$, rango 0.000-0.286), mostrándose desviaciones altamente significativas del EHW. En cuanto al valor promedio del F_{IS} este fue de 0.861 ($DE=0.095$), variando de 0.705 a 1 (locus HCH_C2) y valores altamente significativos en todos los loci. Esta localidad de IGP fue la que presentó la mayor endogamia (Anexo A, Tabla 19).

3.5. Análisis genéticos poblacional entre localidades

3.5.1. Diversidad alélica entre localidades

El tamaño de muestra (N) de los abulones genotipificados por localidad varió ligeramente, presentado las localidades de CAM, CAR e IGP el menor tamaño alrededor de 20 muestras para los ocho loci. Mientras que, PBD tuvo 28 y el resto de las localidades 30 muestras evaluadas (Figura 11). Se encontraron diferencias estadísticas significativas en el tamaño de muestras entre localidades ($P<0.05$), formándose tres grupos: grupo A lo conforman CAM, CAR e IGP y FSJ, el grupo B se forma con PBD y FSJ, y en el grupo C se integraron las localidades de BJM, SLM, ITS y FSJ caracterizado por tener la media más alta. Sin embargo, cabe mencionar que en el caso de IGP, para el microsatélite HCH_A11 solamente 14 individuos pudieron ser genotipados (Figura 12).

En términos de diversidad alélica, la localidad que presentó un mayor diversidad de alelos totales ($N_a = 188$ alelos), efectivos ($N_e=142$ alelos) y riqueza alélica ($R_a=135$ alelos) fue BJM. Seguida de ITS, SLM, PBD y FSJ; con un rango de N_a que varió de 170 a 182 alelos totales. Mientras que, IGP, CAM y CAR presentaron la menor diversidad con sólo 120, 132 y 132 alelos totales (N_a), respectivamente, en ocho loci microsatélite evaluados aquí (Figura 11).

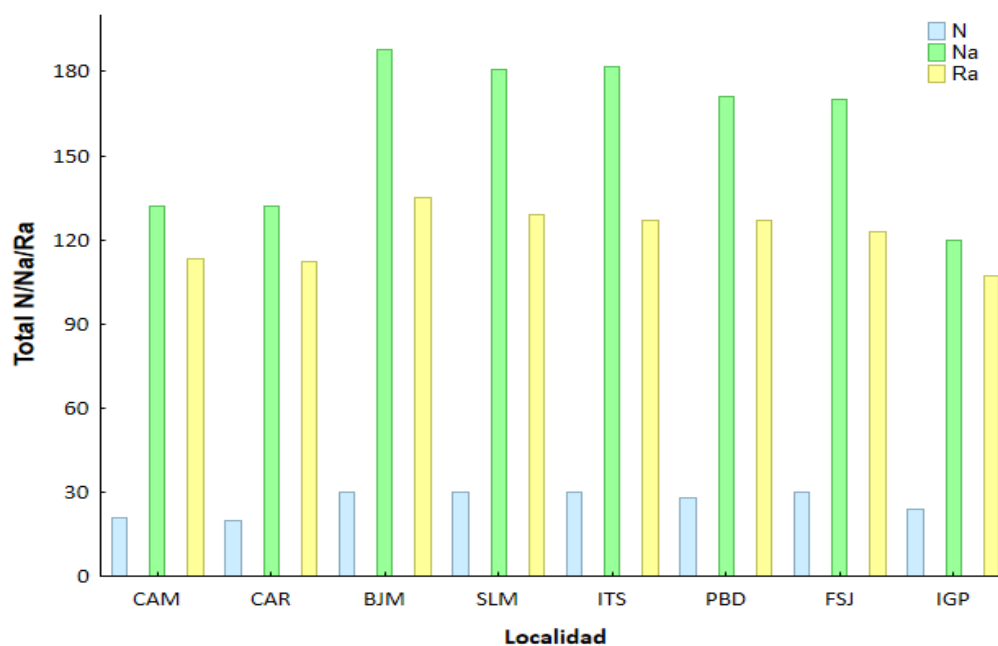


Figura 11. Número de muestra (N), Número de alelos (Na) y Riqueza alélica (Ra) total por localidad.

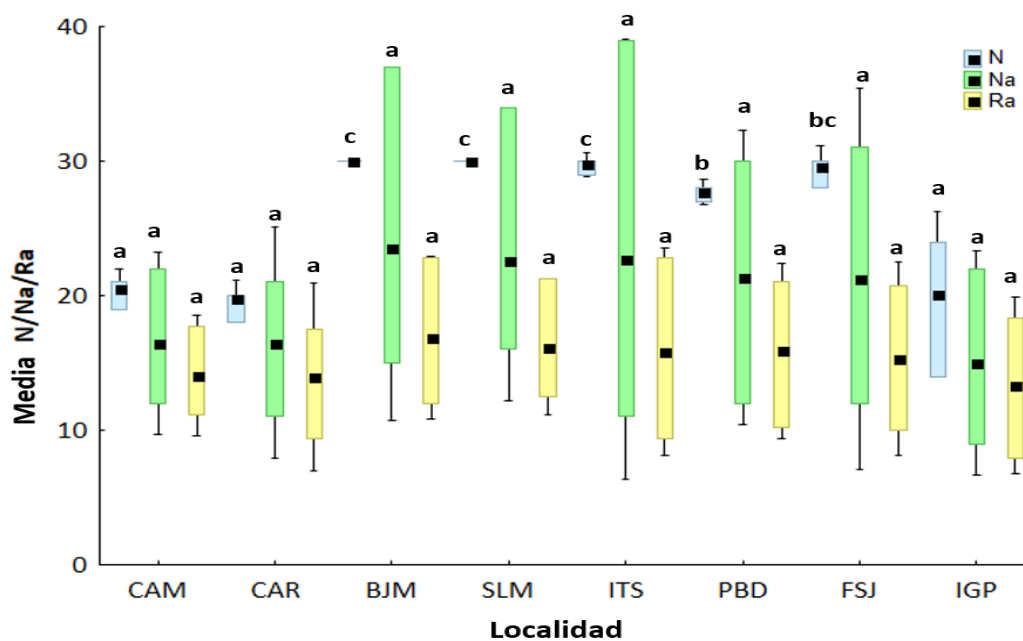


Figura 12. Media del número de muestra (N), número de alelos (Na) y riqueza alélica (Ra) por localidad. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.

En los datos de número de alelos (Na) por localidad no se presentaron diferencias significativas (Figura 13A). Mientras que, en el número de alelos por microsatélite se detectaron diferencias altamente significativas ($P=0.000008$) entre loci microsatélites, conformándose tres grupos (**A**: HCH_A2, A12; **B**:

HCH_A2, A7, A11, B4, C2, C8; C: HCH_A7, A11, B4, B11, C2, C8) (Figura 13B). Evidenciando que el microsatélite HCH_B11 es el menos polimórfico, con un promedio de 13 alelos (DE=2) y el microsatélite HCH_A12 es el más polimórfico, con un promedio de 29 alelos (DE=7.6) en ocho localidades evaluadas.

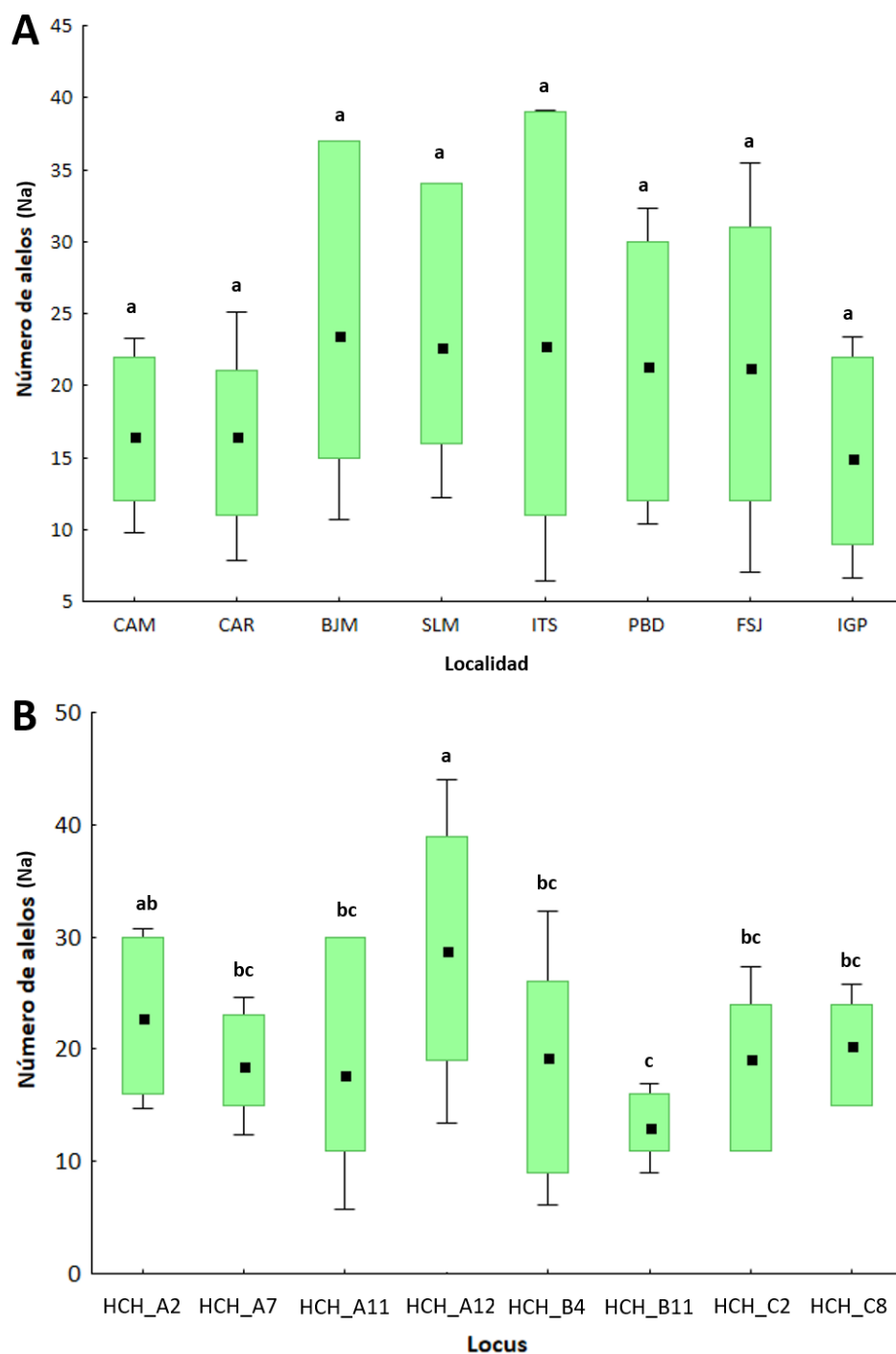


Figura 13. Número promedio de alelos por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) evaluado. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.

En cuanto a los alelos efectivos (alelos que se heredarán a la siguiente generación) por localidad, no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$; Figura 14A), pero en el análisis por loci microsatélite si se identificaron diferencias significativas ($P<0.05$, Figura 14B). Por lo que, posteriormente, se realizó la prueba de comparaciones múltiples Tukey para verificar los loci con diferencias, donde se formaron dos grupos (A y B), el HCH_A12 posee el mayor número de alelos efectivos (23), y el HCH_B11 posee el menor número de Ne con 14 alelos (Figura 14).

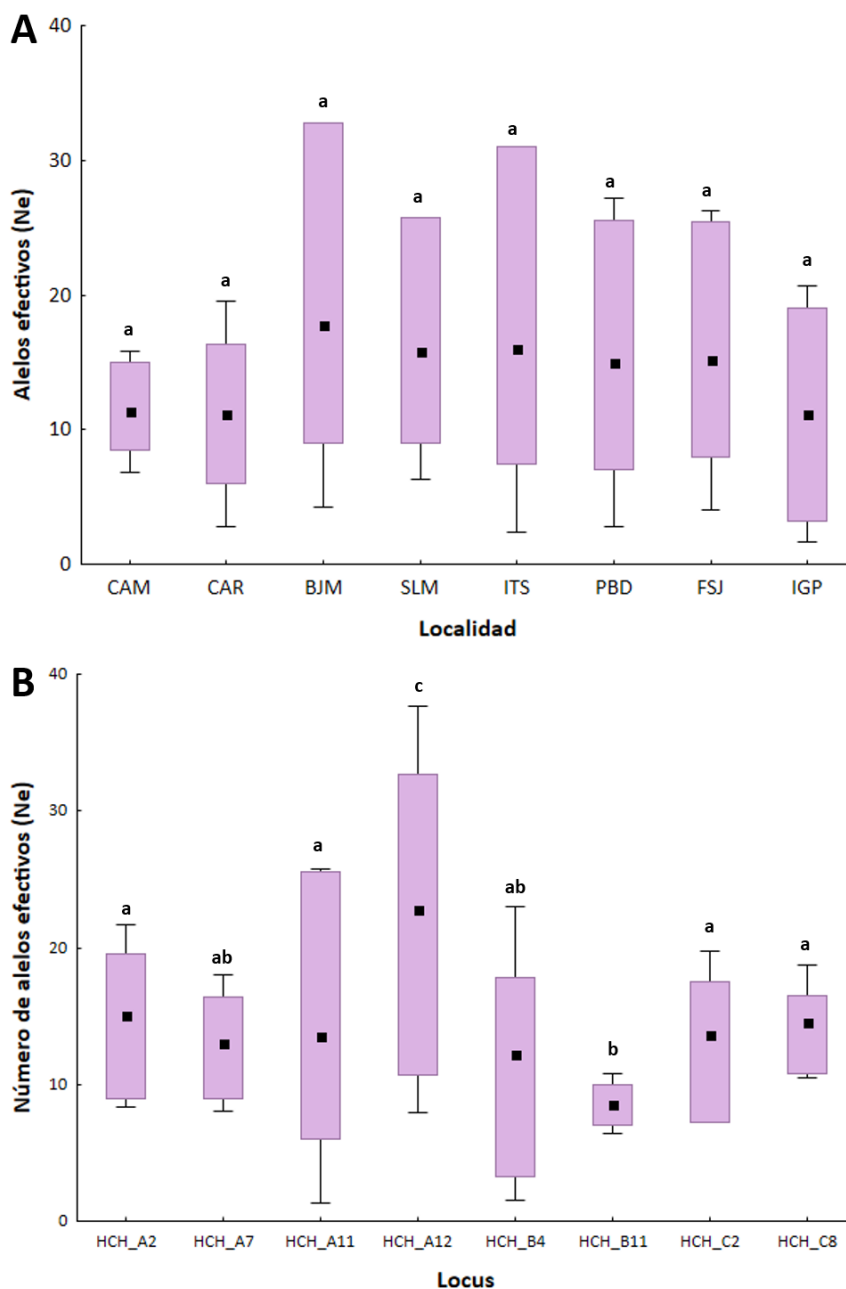


Figura 14. Número promedio de alelos efectivos (Ne) por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) evaluado. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.

En términos de riqueza alélica (número de alelos estandarizados por el tamaño de la muestra), no hay diferencias significativas entre las localidades ($P=0.297$; Figura 15A). Sin embargo, la Ra por microsatélite si mostraron diferencias significativas ($P<0.05$, Figura 15B), la prueba de Tukey señaló la formación de tres grupos (A, B y C), el grupo A lo componen las medias de Ra más grandes (HCH_A2 y A12), el grupo B fueron los loci HCH_A2, A7, A11, B4, C2 y C8, por último, el grupo C, con las medias más pequeñas de riqueza alélica (HCH_A11, B4 y B11).

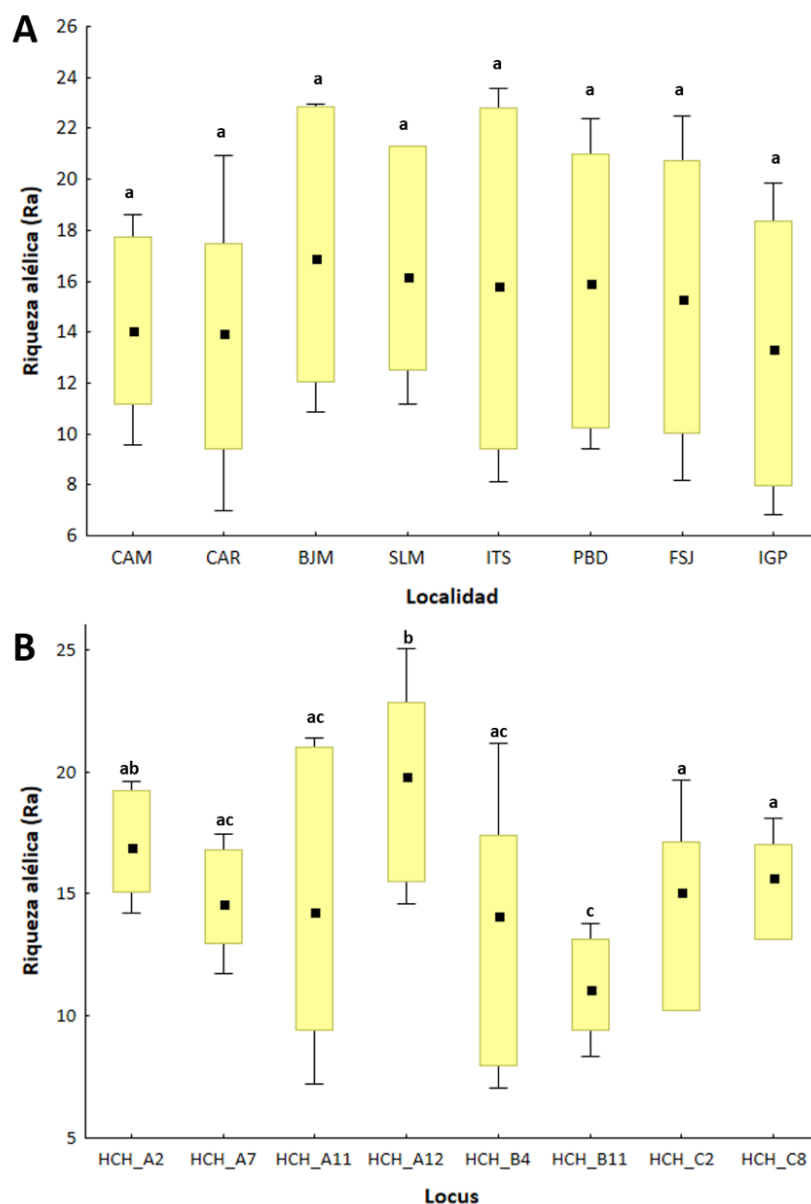


Figura 15. Número promedio de riqueza alélica (Ra) por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) evaluado. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.

Al analizar el número de AP totales por localidad, es decir, aquellos exclusivos por localidad, se observó que CAM y CAR presentaron el menor valor con 3 y 2 alelos privados respectivamente (Anexo B, Tabla 20); lo cual podría estar asociado a que la muestra para el desarrollo de los marcadores microsatélites provenía de una localidad muy cercana a estas (Año Nuevo, CA) y al menor tamaño de muestras con respecto al resto de las localidades de Baja California ($n= 21$ y 20). Mientras que, SLM tuvo 9, FSJ y BJM presentaron 14 y 15. El mayor número de AP totales se obtuvieron en PBD (19), IGP (20) e ITS (21). Con el análisis de varianzas ANOVA no se encontraron diferencias significativas en el número de AP entre localidades, debido a la alta desviación estándar de los datos (Figura 16A). IGP a pesar de tener un tamaño de muestra similar que las localidades de California, presentó diez veces más AP que éstas. Posiblemente debido a las diferencias genéticas ($F_{ST}=0.042$ CAM-IGP y $F_{ST}=0.054$ CAR-IGP), observadas entre las localidades y su lejanía geográfica (1.209 km CAM-IGP y 982 km CAR-IGP), que indica aislamiento por distancia (Figura 16A).

El número total de AP total por locus microsatélite varió de 4 a 30 alelos privados (Anexo B, Tabla 20). El locus microsatélite que presentó el mayor número total de AP fue HCH_A12 (30), seguido de HCH_A11 (23) y HCH_A2 (16). Mientras que, el resto presentó entre 4 y 10 AP totales. Por otra parte, en el análisis con el número promedio de AP por locus microsatélite se observaron diferencias significativas, y se conformaron dos grupos (a y b; Figura 16B). En el grupo a pertenecen los locus HCH_A2, A7, A11, B4, B11, C2 y C8, mientras que el grupo b solamente se conformó con los loci HCH_A2, A11 y A12, donde se observó el mayor número total de AP en las ocho localidades.

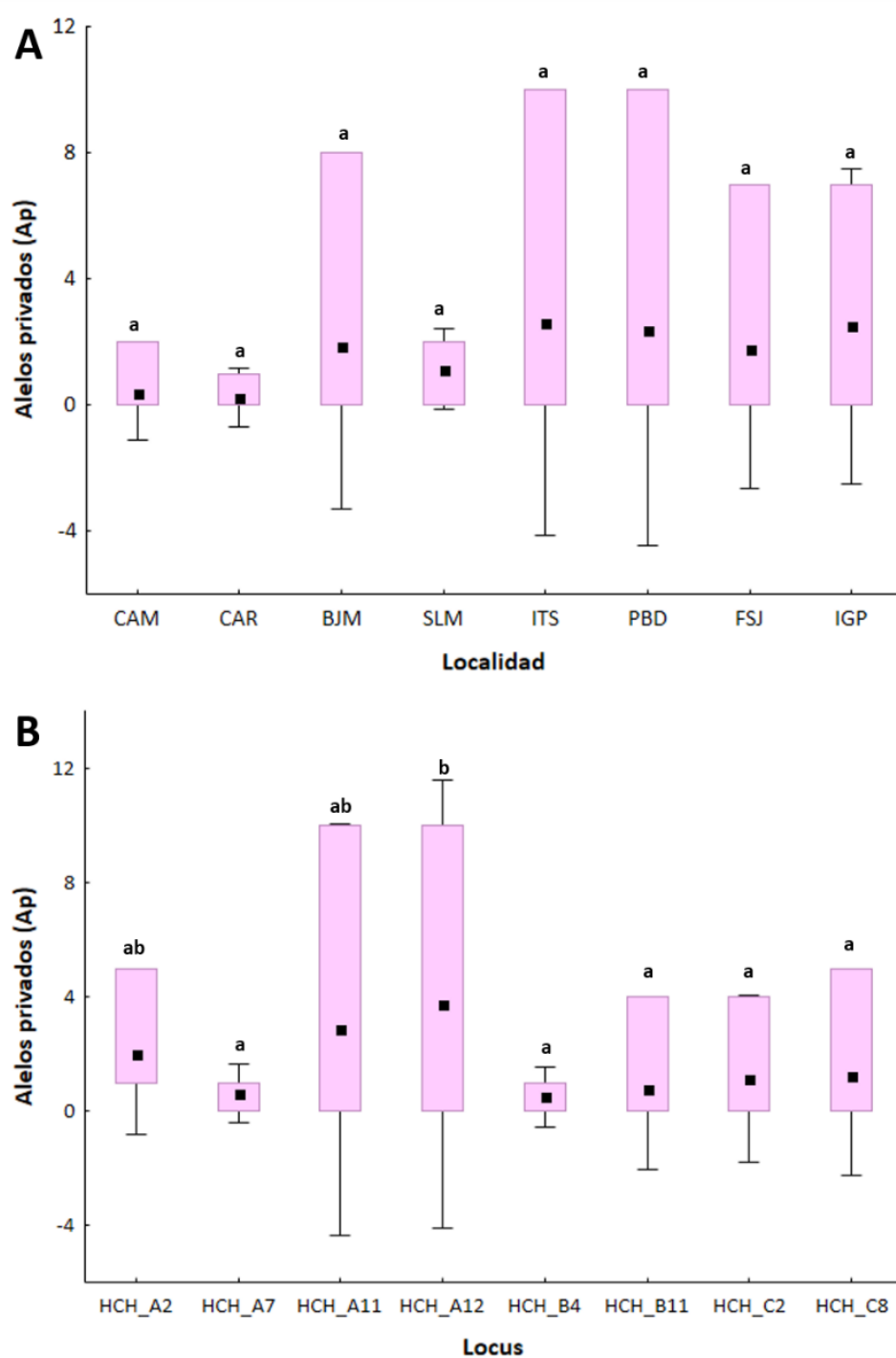


Figura 16. Número promedio de alelos privados (AP) por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) evaluado. Las cajas de color muestran los valores mínimos y máximos, los cuadros negros representan el valor medio y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.

3.5.2. Heterocigosidad esperada y observada, y coeficiente de endogamia entre localidades

Todas las poblaciones presentaron déficit de heterocigotos (exceso de homocigotos), lo cual se puede observar al comparar los valores de H_e y H_o gráficamente en la Figura 17A. Considerando las ocho localidades, los valores promedio de H_o estuvieron entre 0.885 a 0.937; y los de H_e entre 0.130 a 0.778. Presentando las poblaciones de California, CAM y CAR, los valores promedio de H_o más altos (0.778 y 0.729), siendo estas las que presentaron el mayor número de organismos heterocigotos y los menores índices de endogamia (0.227 y 0.303) siendo significativos y mostrando tendencia a una moderada endogamia (Figura 17B). Mientras que, el rango de H_o promedio en las localidades de Baja California varió de 0.130 a 0.455; siendo IGP el valor más bajo y coincidiendo con el valor promedio de F_{IS} más alto (0.861) de todas las localidades (Figura 17A y B). Todas las localidades de Baja California presentaron desequilibrio de Hardy-Weinberg y valores promedio de F_{IS} con tendencia a una alta endogamia (0.523 a 0.861).

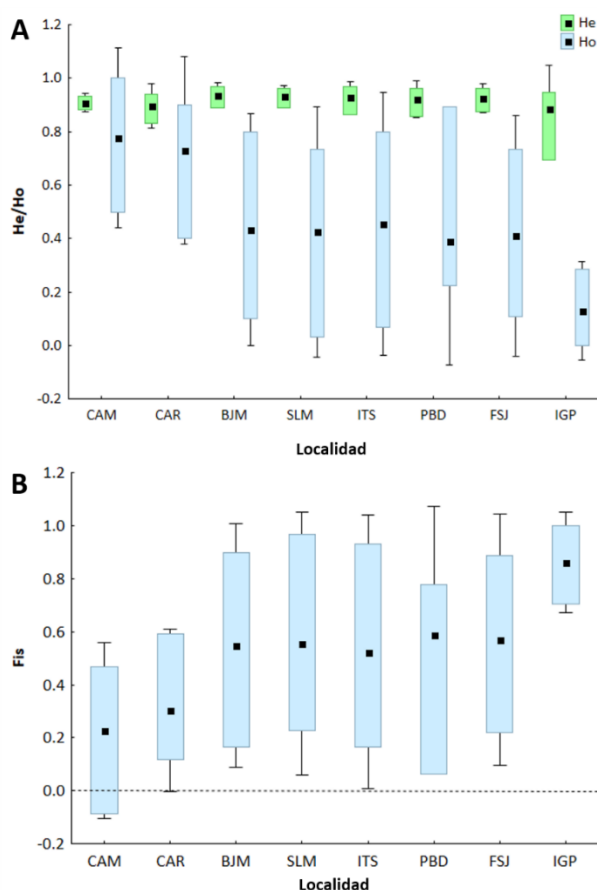


Figura 17. Valores promedio de heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o ; A) y coeficiente de endogamia (F_{IS}) por localidad. Los extremos de las cajas muestran valores mínimos y máximos de H_e y H_o , los recuadros negros representan la media y los bigotes la desviación estándar. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.

3.5.3. Exceso de homocigotos por presencia de alelos nulos

Las localidades BJM, SLM, ITS, FSJ e IGP presentaron exceso de homocigotos en los todos los loci microsatélite. PBD mostró un exceso en siete loci, CAM y CAR en solamente seis loci. El porcentaje promedio de alelos nulos en los ocho loci evaluados varió de 10 a 40% entre las ocho localidades estudiadas aquí, y resulto significativamente diferente entre estas ($P<0.05$). Presentándose, como se observa en la figura 18 un menor porcentaje en las localidades de CAM (10%, DE=6.6) y CAR (13%, DE=7.6), y valores mayores en IGP (40%, DE=5.0). La prueba de comparaciones múltiples señaló que el porcentaje de alelos nulos en las localidades de SLM, PBD e FSJ son significativamente diferentes al estimado en CAM (Anexo C, Tabla 21). Mientras que, el porcentaje de alelos nulos encontrado en IGP presentó diferencias altamente significativas con las localidades de California (CAM y CAR). Las poblaciones se asociaron en 3 grupos (A, B y C) que se observan en la Figura 18 (Anexo C; Tabla 22).

Con respecto, al porcentaje de alelos nulos por microsatélite (Figura 18B), estos variaron de 12 a 34%, y mostrando diferencias altamente significativas entre marcadores ($P<0.05$; Anexo C, Tabla 23). Tales diferencias asociaron a los microsatélites en tres grupos: A (HCH_A2, A7, A11, A12, B11 y C2), B (HCH_A2, A7, A12, B4, B11 y C2) y C (HCH_A2, A7, B4, B11, C2 y C8). El mayor porcentaje de alelos nulos se observó en el microsatélite HCH_A11 (34%, DE=15.8) y el menor en HCH_C8 (12%, DE=9.3). respectivamente.

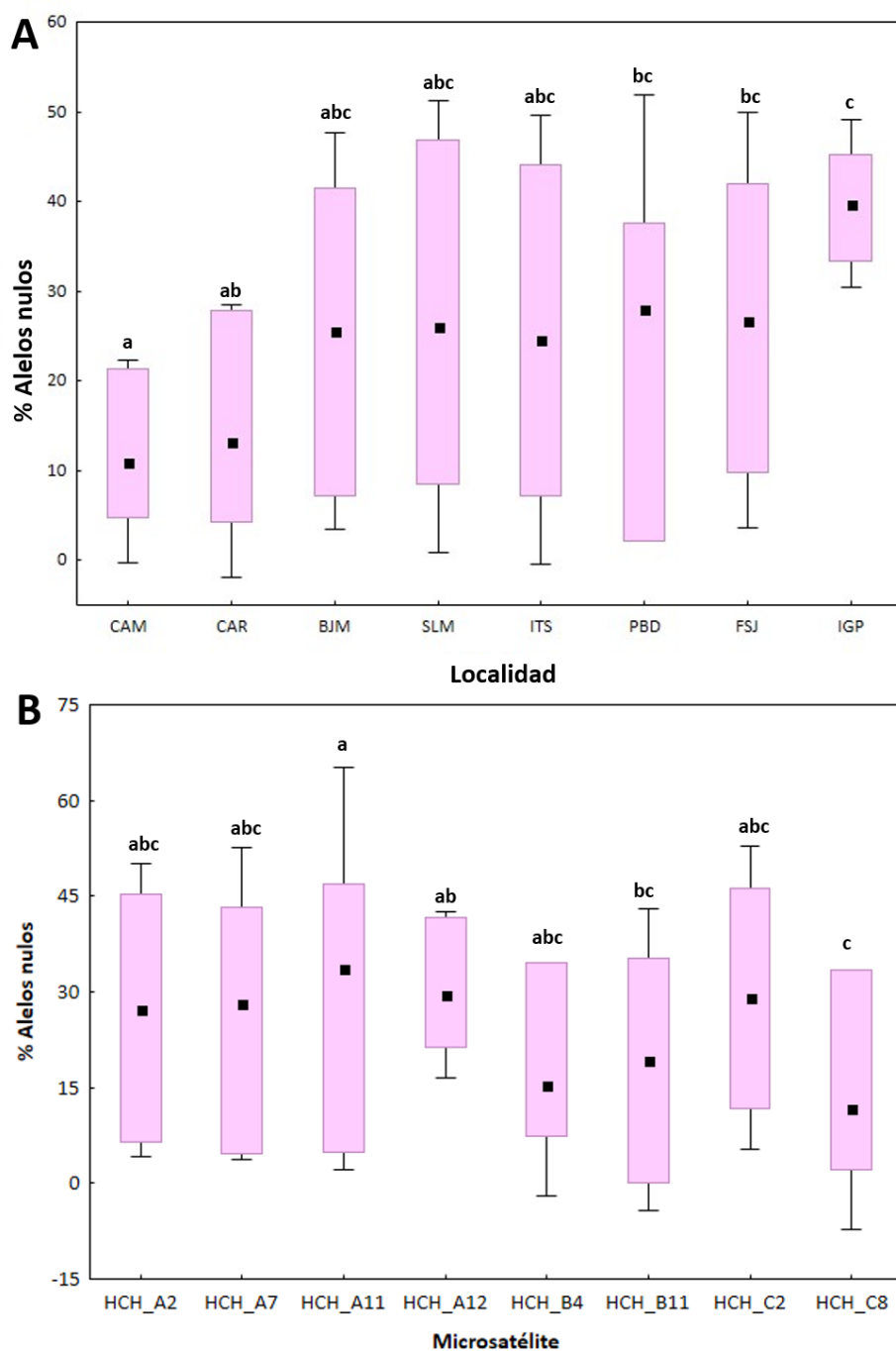


Figura 18. Porcentaje promedio de alelos nulos por localidad (A) y por marcador microsatélite (B) para abulón negro. Las cajas representan los valores máximos y mínimos de cada población, los cuadros dentro de las cajas son la media de los datos y los bigotes son la desviación estándar por población. Las letras se refieren a los resultados estadísticos.

3.6 Diferenciación genéticas entre localidades

A continuación, se describirán los resultados obtenidos en distancias genéticas y su relación con las distancias geográficas entre localidades estudiadas.

3.6.1. Distancias genéticas y distancias geográficas con todos los individuos

Se calcularon las distancias geográficas en kilómetros, entre BJM y SLM existe la distancia geográfica más corta de sólo 19 km; mientras que, la distancia más larga fue de 1,209 km entre las localidades ubicadas a los extremos de este análisis (CAM e IGP; Tabla 55). En cuanto a distancias genéticas entre pares de localidades (F_{ST}) con la corrección de Bonferroni, no se observaron diferencias significativas cuando los valores de F_{ST} variaron de 0.006 a 0.018. Las localidades de California, CAM y CAR, presentaron diferencias genéticas significativas con las localidades de Baja California con valores de F_{ST} de 0.023 (ITS) a 0.042 (IGP), exceptuando CAM con BJM (752 km; $F_{ST} = 0.016$, $P=0.013$). CAR, a pesar de estar más cercana a BJM (513 km) si presentó diferencias significativas en F_{ST} . Dentro de las localidades de Baja California, SLM fue la única con diferencias genéticas significativas con PBD ($F_{ST} = 0.021$; $P=0.001$), FSJ ($F_{ST} = 0.018$; $P=0.001$) e IGP ($F_{ST} = 0.034$; $P=0.001$). Por otra parte, los valores de F_{ST} de la localidad de IGP resultaron significativamente diferentes de todas las localidades, variando de un valor mínimo de 0.028 con ITS a un valor máximo de 0.054 con la localidad de CAR (982 km) (Tabla 5, valores bajo la diagonal). En términos de magnitud del índice de fijación F_{ST} , se observó que los valores más bajos se dieron entre BJM y SLM ($F_{ST} = 0.006$; $P=0.795$) y entre BJM e ITS ($F_{ST} = 0.007$; $P=0.578$), que presentan una gran similitud genética. Mientras que, el valor máximo de F_{ST} se dio entre CAR e IGP ($F_{ST} = 0.054$; $P=0.008$). La relación entre los valores del coeficiente de fijación F_{ST} no significativos y la distancia geográfica entre las localidades evaluadas presentó un coeficiente de correlación de Pearson (r) de 0.41 ($R^2 = 0.16818$; Figura 19), lo que significa que existe una correlación positiva baja, y no necesariamente todas las localidades con menor distancia geográfica entre ellas son más parecidas. Por ejemplo, ITS que se encuentran a tan sólo 30 km de distancia de PBD presentó un valor de F_{ST} de 0.017; así mismo, CAM y BJM que se encuentran a 752 km, presentaron valores de F_{ST} similares (0.016) a ITS-PBD (Anexo D, Tabla 24).

Tabla 5. Resultado de las distancias geográficas (arriba de diagonal) y distancias genéticas (bajo la diagonal) entre pares de localidades con todos los individuos. Los valores con * indican pares de localidades donde existen diferencias genéticas estadísticamente significativas ($P < 0.00625$).

	CAM	CAR	BJM	SLM	ITS	PBD	FSJ	IGP
CAM	-	239	752	771	795	852	1105	1209
CAR	0.013	-	513	532	556	586	886	982
BJM	0.016	0.021*	-	19	43	73	353	522
SLM	0.025*	0.027*	0.006	-	24	54	334	504
ITS	0.023*	0.031*	0.007	0.014	-	30	310	494
PBD	0.024*	0.038*	0.015	0.021*	0.017	-	280	483
FSJ	0.024*	0.029*	0.013	0.018*	0.012	0.018	-	265
IGP	0.042*	0.054*	0.030*	0.034*	0.028*	0.033*	0.033*	-

*= valores significativos ($P < 0.00625$)

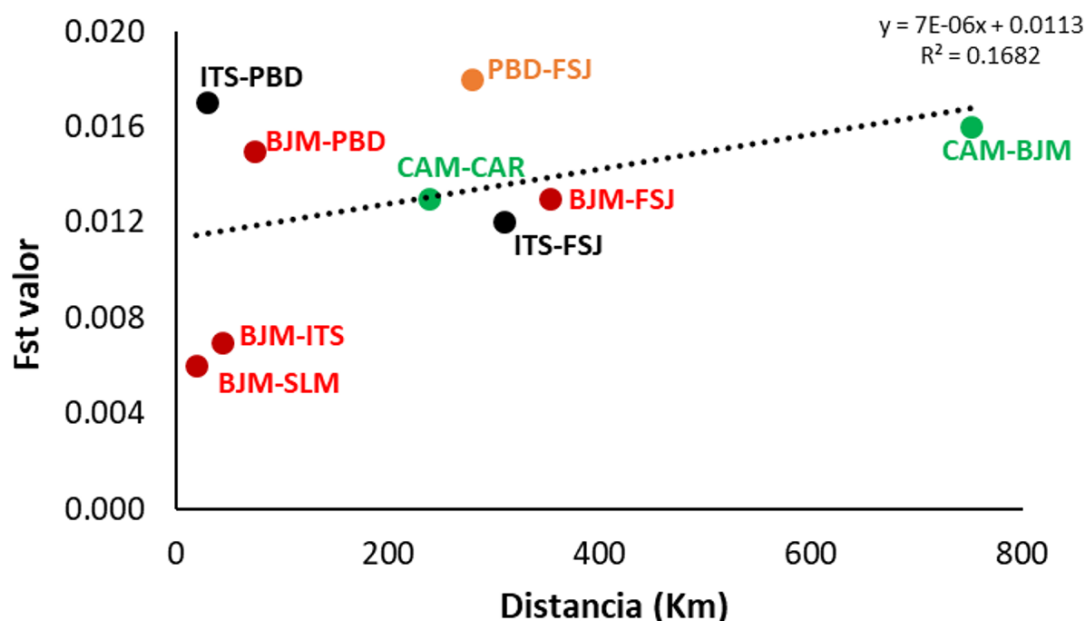


Figura 19. Relación entre los valores del coeficiente de fijación F_{ST} no significativos, y por lo tanto genéticamente similares, y la distancia geográfica entre localidades.

Si bien, algunas localidades presentaron un mayor F_{ST} cuando hay grandes distancias geográfica entre ellas, como por ejemplo las localidades de California con respecto a IGP, otras no manifiestan tal efecto, como SLM y PBD que existen 54 km entre ellas y presentaron un $F_{ST} = 0.021$, mayor al que se calculó entre SLM y FSJ a pesar de la distancia ($F_{ST} = 0.018$; 334 km). Con esto, la relación entre los valores de F_{ST} significativos y las distancias geográficas entre estas localidades presentaron un coeficiente de correlación de Pearson

(r) igual a 0.39 ($R^2 = 0.1514$; Figura 20), lo que indica una correlación positiva baja debido a las localidades que no cumplen el efecto anterior (mayor F_{ST} a mayor distancia geográfica) (Anexo D, Tabla 24).

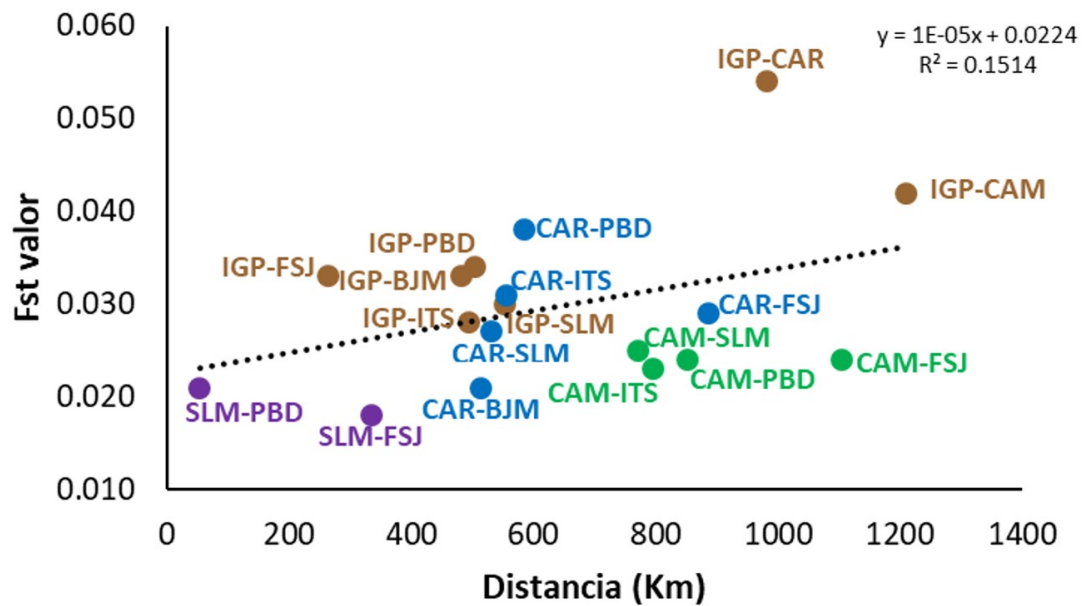


Figura 20. Relación entre los valores del coeficiente de endogamia F_{ST} significativos, y por lo tanto genéticamente diferentes, y la distancia geográfica entre localidades.

3.6.2. Distancias genéticas y distancias geográficas con juveniles y adultos

De acuerdo con las observaciones que se realizaron en los estudios de Leighton y Boolootian (1963) se dividieron los organismos de cada localidad entre juveniles (<50 mm de longitud de concha) y adultos (>50 mm). Posteriormente, se realizó el análisis de distancias genéticas entre pares de localidades por separado solo con organismos juveniles y adultos. Por lo tanto, las localidades que se usaron en este análisis de distancias genéticas entre pares de localidades con juveniles fueron BJM, SLM, ITS, PBD y FSJ. Las localidades de California se excluyeron, porque, no se tienen los registros de tallas de los individuos. Mientras que, IGP fue excluida porque todos los organismos eran adultos con un rango de tallas de 100.4 a 131.7 mm.

Los resultados demuestran que, no existen diferencias genéticas significativas entre los organismos juveniles de abulón negro de las localidades de BJM, SLM, ITS, PBD y FSJ (Tabla 6). Sin embargo, los valores de F_{ST} menores se observaron entre juveniles, BJM y SLM ($F_{ST} = 0.018$; $P = 0.935$) y el mayor valor entre ITS y FSJ ($F_{ST} = 0.106$; $P = 0.199$; Tabla 6).

Tabla 6. Resultado de las distancias geográficas (arriba de diagonal) y distancias genéticas (bajo la diagonal) entre pares de localidades con organismos juveniles (<50 mm). Los valores con * indican pares de localidades donde existen diferencias genéticas estadísticamente significativas ($P < 0.00625$).

	BJM	SLM	ITS	PBD	FSJ
BJM	-	19	43	73	353
SLM	0.018	-	24	54	334
ITS	0.060	0.080	-	30	310
PBD	0.037	0.031	0.044	-	280
FSJ	0.034	0.040	0.106	0.046	-

Mientras que, en el análisis entre pares de localidades con organismos adultos (>50 mm), solamente se presentaron diferencias genéticas significativas entre IGP y el resto de las localidades de Baja California (Tabla 7). El valor de F_{ST} de IGP con el resto de las localidades fue mínimo de 0.029 con ITS (494 km) y máximo de 0.054 con FSJ (625 km). En el resto, varió de 0.043 a 0.048 (Tabla 7). En el resto de las comparaciones que no presentaron diferencias significativas, el valor de F_{ST} varió de 0.006 a 0.024.

Tabla 7. Resultado de las distancias geográficas (arriba de diagonal) y distancias genéticas (bajo la diagonal) entre pares de localidades con organismos adultos (>50 mm). Los valores con * indican pares de localidades donde existen diferencias genéticas estadísticamente significativas ($P < 0.00625$).

	BJM	SLM	ITS	PBD	FSJ	IGP
BJM	-	19	43	73	353	522
SLM	0.011	-	24	54	334	504
ITS	0.010	0.006	-	30	310	494
PBD	0.018	0.019	0.010	-	280	483
FSJ	0.023	0.024	0.020	0.019	-	625
IGP	0.048*	0.044*	0.029*	0.043*	0.054*	-

3.6.3. Aislamiento por distancia con todos los individuos

La correlación lineal entre las distancias geográficas (km) y distancias genéticas (F_{ST}) se estimó mediante la prueba de Mantel, obteniéndose un coeficiente de correlación de Pearson (r) positivo con un valor medio de 0.65 con un valor de p fue significativo (<0.05) evidenciando aislamiento por distancia (Figura 21, Tabla 8). Se realizaron varias transformaciones de los datos para ver si mejoraba el ajuste de la regresión (Anexo D; Tabla 25), obteniéndose que al usar el logaritmo de las distancias geográficas y genéticas el coeficiente de correlación (r) alcanzó un valor máximo de 0.70 (Tabla 8).

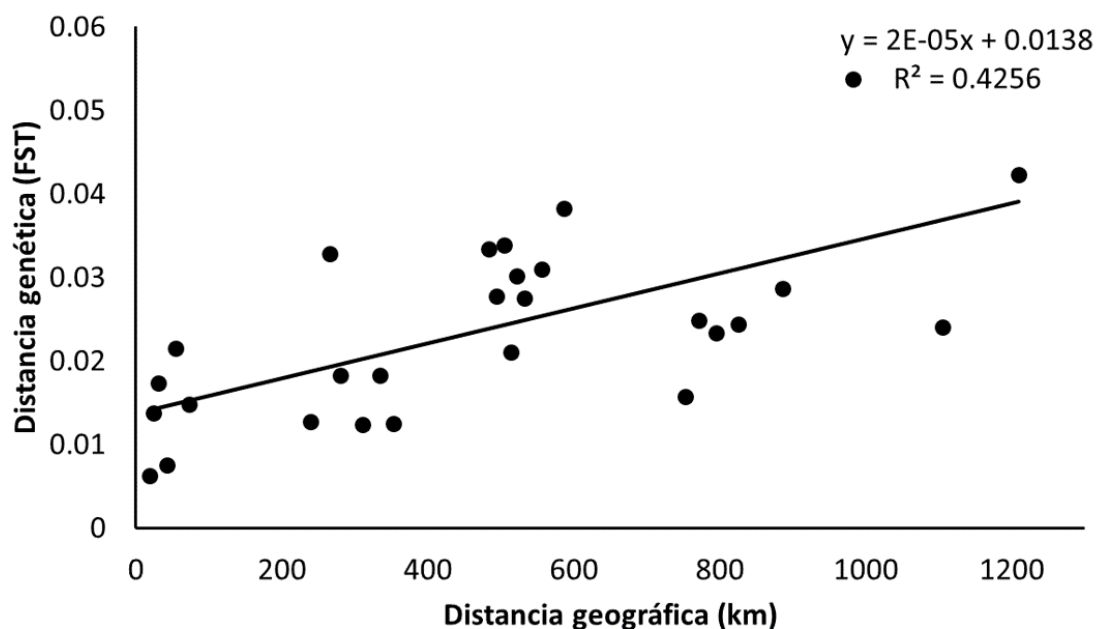


Figura 21. Relación entre las distancias geográficas y distancias genéticas normales (km y F_{ST}).

Tabla 8. Resultados de aislamiento por distancia con la estimación F_{ST} con distancias geográficas y la transformación logaritmo de F_{ST} con logaritmo de distancias geográficas (km).

Modelo	Intercepto	Pendiente	N	Z	r	R ²	P Valor
F_{ST} Km							
Estimado	0.00839	0.00003	28	388.0992	0.6524	0.426	0.0078
Error estándar	0.00279	0.00000					
Log F_{ST} _LogKm							
Estimado	-2.68400	0.40830	28	-113.9806	0.7015	0.492	0.0045
Error estándar	0.14500	0.05710					

3.6.2. Dendrograma

Para la construcción del dendrograma, e identificar la similitud genética entre las localidades estudiadas, se calcularon los valores de distancias genéticas de Cavalli-Sforza y Edwards (D_c , 1967), utilizando el modelo del vecino más cercano (*Neighbor Joining*) con 1,400 repeticiones. Asimismo, se consideró el aislamiento por distancia dada la evidencia de la prueba de Mantel mencionada anteriormente, tanto por separación por tiempo entre las localidades, como por la migración de genes. Por otra parte, considerando los valores de F_{ST} , la raíz del árbol de posicionó en la localidad más lejana geográficamente y con diferencias genéticas significativas del resto de las localidades que fue IGP (Tabla 5).

El dendrograma resultante mostró dos ramas claras, una que contiene la mayoría de las localidades (California y Baja California) y otra en la que únicamente se encuentra la localidad de Punta Banda (PBD: Figura 22). En la primer rama, se observó que las localidades de California (CAM y CAR) se separaron como un subclado del resto de las localidades costeras de Baja California e Isla Todos Santos (ITS), las cuales conforman un segundo subclado dentro de esta rama. Además, dentro del subclado de Baja California, Bajamar (BJM) y Saldamando (SLM) se agrupan entre ellas evidenciando su similitud genética por su proximidad geográfica (19 km de separación). Mientras que, ITS se agrupo con FSJ que se encuentra a 310 km de distancia, lo cual podría estar relacionado con la influencia que presenta la corriente de California en el área de ITS. La topología inferida con las de distancias genéticas de Cavalli-Sforza y Edwards (1967) fueron iguales a las inferidas con otros estimadores como las distancias genéticas de Nei (datos no mostrados).

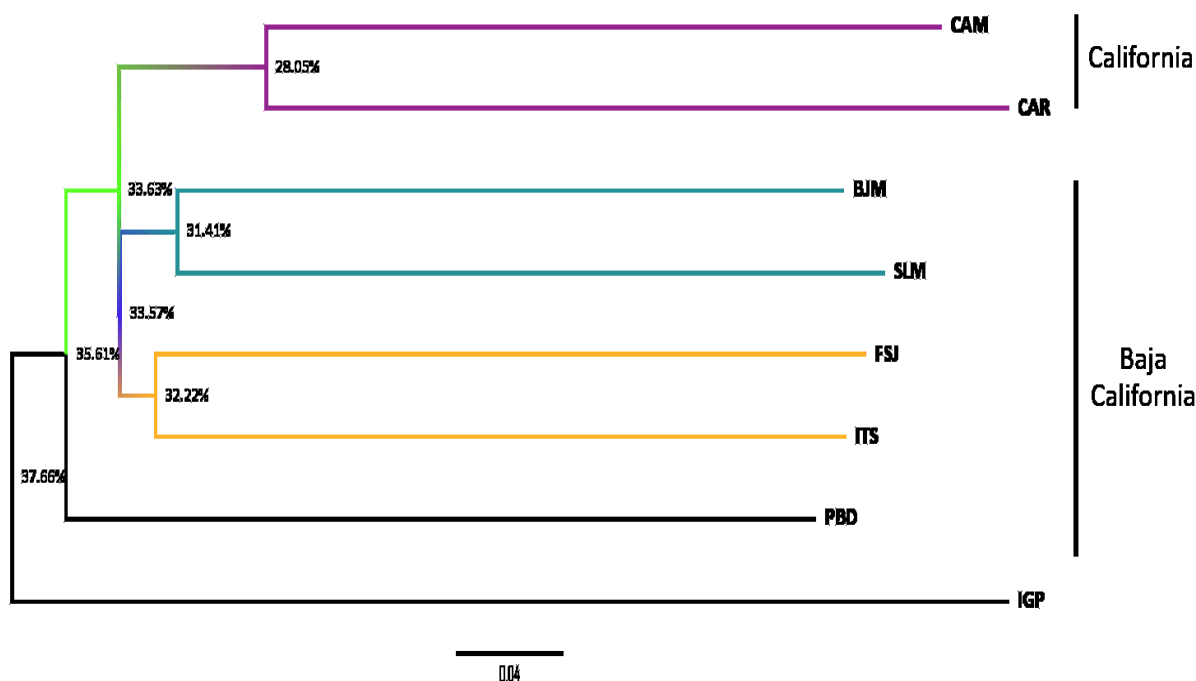


Figura 22. Dendrograma inferido con el método del vecino más cercano con base en las distancias genéticas de Cavalli-Sforza y Edwards (D_c , 1967) en las localidades de abulón negro evaluadas en este estudio, anclado a la localidad de IGP como grupo externo dadas las diferencias genéticas observadas.

3.7 Estructura poblacional entre localidades

3.7.1. Estructura poblacional con todos los individuos

A pesar de la evidencia anterior de una posible estructura genética evidenciada por el coeficiente de fijación F_{ST} y las relaciones observadas en el dendrograma con el estimador de distancia genética (D_c) propuesto por Cavalli-Sforza y Edwards (1967), el primer exploratorio con el programa STRUCTURE se ejecutó con el número total de localidades que se colectaron para este estudio ($K=8$). En el gráfico de componentes, no se logra observar una clara diferenciación en la estructura; sin embargo, se lograron discriminar las zonas de California e Isla Guadalupe del resto, dada la predominancia de uno de los componentes (Figura 23).

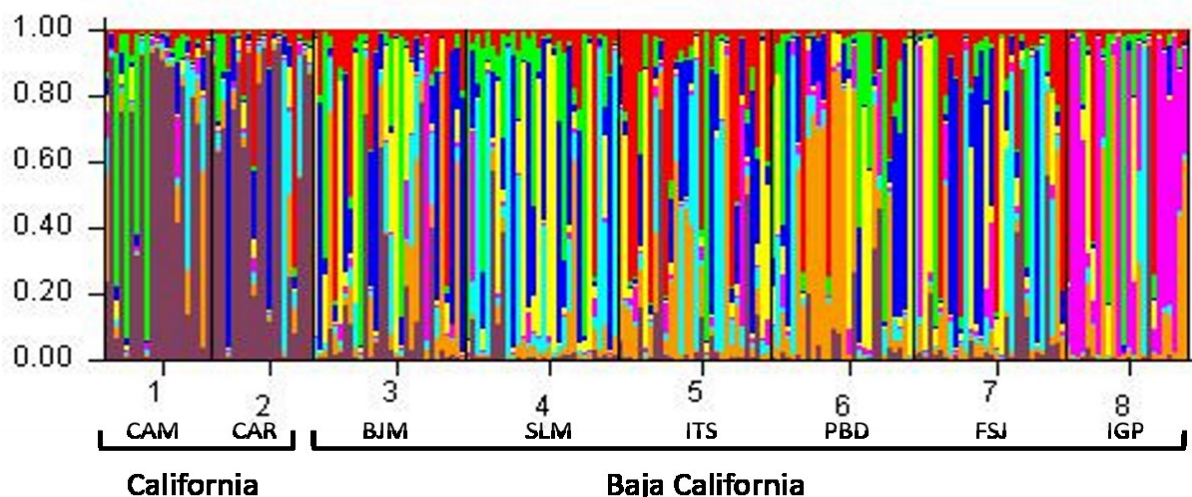


Figura 23. Gráfico de estructura poblacional a través de componentes con K=9 como primera instancia para conocer el número real de agrupaciones.

Posteriormente, estos resultados se analizaron mediante el programa STRUCTURE HARVESTER, donde se muestran los grupos reales de componentes genéticos (k) que existen en las localidades evaluadas, utilizando el método de Evanno y la ecuación para la designación de la delta K el análisis sugirió la formación de 4 grupos (Anexo E Figura 33). Por lo cual, se volvió a ejecutar el programa STRUCTURE indicando un k igual al número de componentes inferidos de 4 (Figura 24). Los resultados indican que las localidades de California (CAM y CAR) pertenecen al primer componente genético, representado por el color “rojo”. Mientras que, la localidad de Isla Guadalupe se identificó claramente por el componente genético “verde” (Figura 24). Por otra parte, SLM presenta el mayor porcentaje del componente genético “amarillo”; mientras que la mayoría de las localidades de Baja California (BJM, SLM, ITS, PBD y FSJ) presentan una mezcla de los distintos componentes genéticos en los organismos evaluados en cada localidad, evidenciando una zona de transición de norte a sur, con un efecto que se ve más claro con el componente “amarillo” mayormente representado en abulones del norte, mientras que los componentes genéticos “verde” se encuentran mayormente representados en abulones del sur (Figura 24). Por otra parte, el componente “azul” estuvo más representado en las localidades de ITS y FSJ. Dichos resultados de estructura genética coinciden con los obtenidos en el dendrograma presentado en la sección anterior.

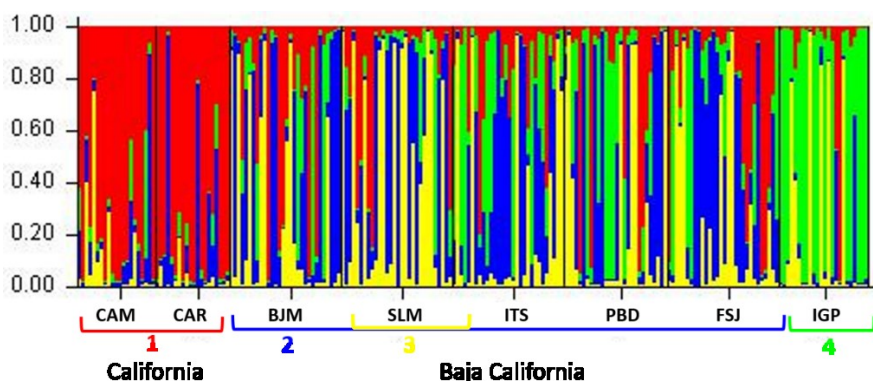


Figura 24. Gráfico de estructura genética poblacional con un k igual a 4.

3.7.2. Estructura poblacional con juveniles

También se estimó la estructura poblacional entre las localidades conteniendo solamente organismos juveniles menores a 50 mm de longitud de concha. Las cinco poblaciones que se analizaron fueron BJM, SLM, ITS, PBD y FSJ, por lo que utilizó inicialmente un valor de k igual a 5. Los resultados de la estructura no mostraron una agrupación específica, dado que la mayoría de los organismos de todas las localidades presentan los cinco componentes genéticos en proporciones similares (Figura 21A). Sin embargo, la prueba de Evanno mostró la existencia de dos componentes ($k=2$) entre las cinco localidades. Al ejecutar de nuevo el programa con k igual a 2, vemos que ambos componentes se distribuyen en los organismos de las diferentes localidades. En la localidad de Saldamando (SLM) el componente “rojo” está representado con un porcentaje mayor que en las otras localidades del 42%; mientras que en el resto de las localidades (BJM, ITS, PBD y FSJ), el componente genético “verde” (Figura 25B) (Anexo E, Tabla 26).

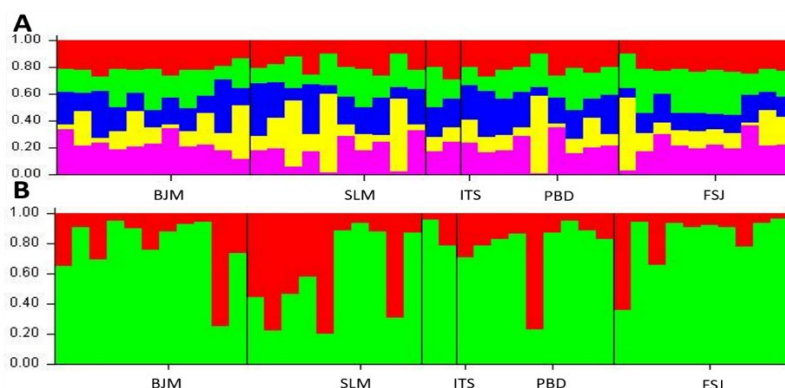


Figura 25. Resultados de la estructura poblacional con un k igual a 5 (A) y k igual a 2 (B), utilizando a los organismos juveniles (< 50 mm) de cada localidad.

3.7.3. Estructura poblacional con adultos

Por otra parte, se realizó el análisis para conocer la estructura población solamente con organismos adultos, mayores a 50 mm de longitud de concha. Las poblaciones que se utilizaron para el análisis fueron BJM, SLM, ITS, PBD, FSJ e IGP, por lo que utilizo un valor de k igual a 6. Usando el número de las localidades como total de componentes, los resultados demostraron que solamente se logran diferenciar a los abulones de Isla Guadalupe del resto de las localidades (Figura 26A). Con la prueba de Evanno, el número de agrupaciones genéticas reales resultó en k igual a 3. Los resultados de STRUCTURE con k igual a tres, permiten distinguir claramente la localidad de Isla Guadalupe (IGP) con una mayor proporción del componente “azul” respecto al resto (Figura 26B). Mientras que, en el resto de las localidades (BJM, SLM, ITS, PBD y FSJ) están los componentes “verde” y “rojo” mayormente representados (Figura 26B).

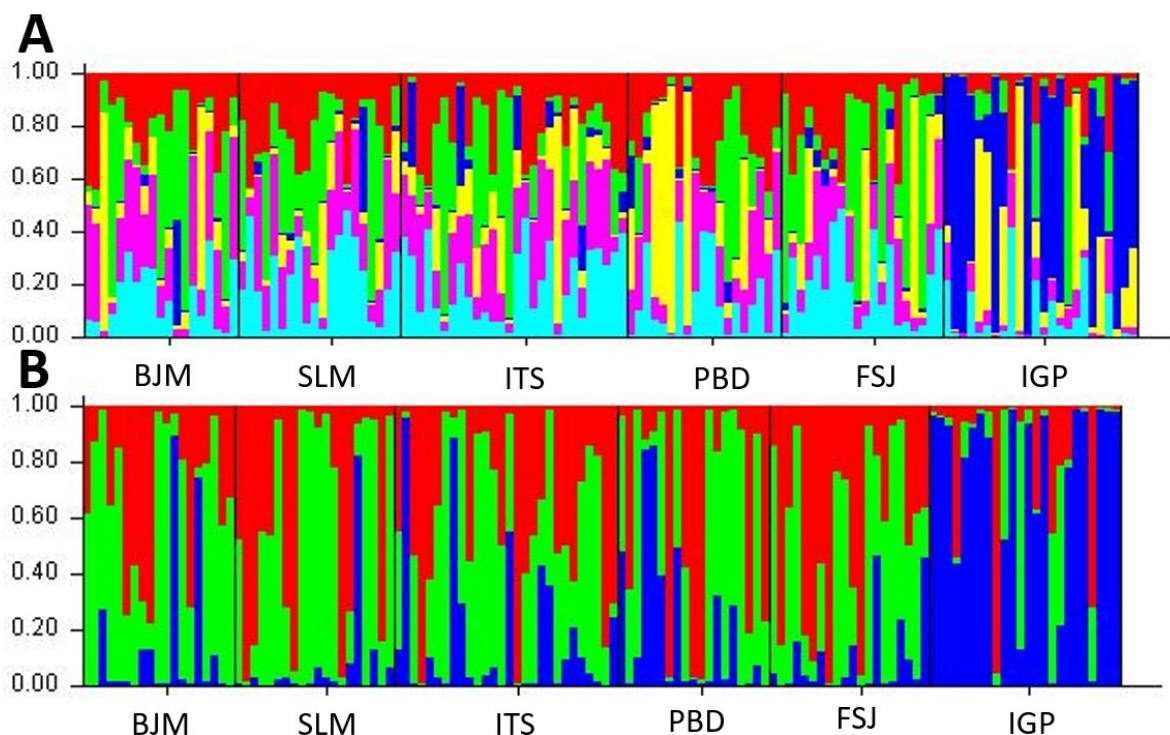


Figura 26. Resultados de la estructura poblacional con un k igual a 6 (A) y k igual a 3 (B), utilizando a los organismos adultos (> 50 mm) de cada localidad.

3.7.4. Análisis de varianza molecular (AMOVA)

Para el análisis de varianza molecular (AMOVA) se establecieron cuatro grupos, estos de acuerdo con los resultados del programa STRUCTURE utilizando todos los organismos (juveniles y adultos). El primer grupo lo conformaron las localidades de CAM y CAR, el segundo grupo las zonas de BJM, ITS, PBD y FSJ, el tercer grupo la localidad de SLM y el cuarto la localidad de IGP.

El análisis de la distribución de la diversidad genética (AMOVA; Tabla 9), con base al agrupamiento realizado, evidenció que la mayor variación fue encontrada dentro de los individuos (49.4%; $p < 0.0001$) y entre individuos dentro de las localidades analizadas (49%; $p < 0.0001$). Mientras que, en mucho menor medida por las diferencias entre grupos (0.96%) y entre localidades dentro de los grupos (0.57%).

Tabla 9. Resultados del análisis de varianza molecular (AMOVA).

Recurso de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	Índices de fijación	P
Entre grupos	3	26	0.031	0.960	FCT: 0.010	0.007
Entre localidades dentro de grupos	5	29	0.018	0.570	FSC: 0.006	0.000
Entre individuos dentro de localidades	231	1107	1.592	49.020	FIS: 0.498	0.000
Dentro de individuos	240	386	1.606	49.450	FIT: 0.505	0.000
Total	479	1547	3.248			

3.8 Conectividad entre localidades y cuello de botella

3.8.1. Migración

En el análisis de conectividad se excluyeron las localidades de California EE. UU. e IGP, debido a los diferentes años en los que se realizaron los muestreos. El análisis de conectividad entre localidades se realizó utilizando las frecuencias alélicas y las distancias geográficas entre ellas, resultando que, la interacción entre las localidades se lleva a cabo bidireccionalmente; con un flujo genético significativamente mayor de sur a norte (Figura 27). Por ejemplo, de norte a sur, es decir, de BJM a PBD se estimó una migración entre 100 migrantes, en cambio, de sur a norte (PBD a BJM) se calculó en 14,600 migrantes.

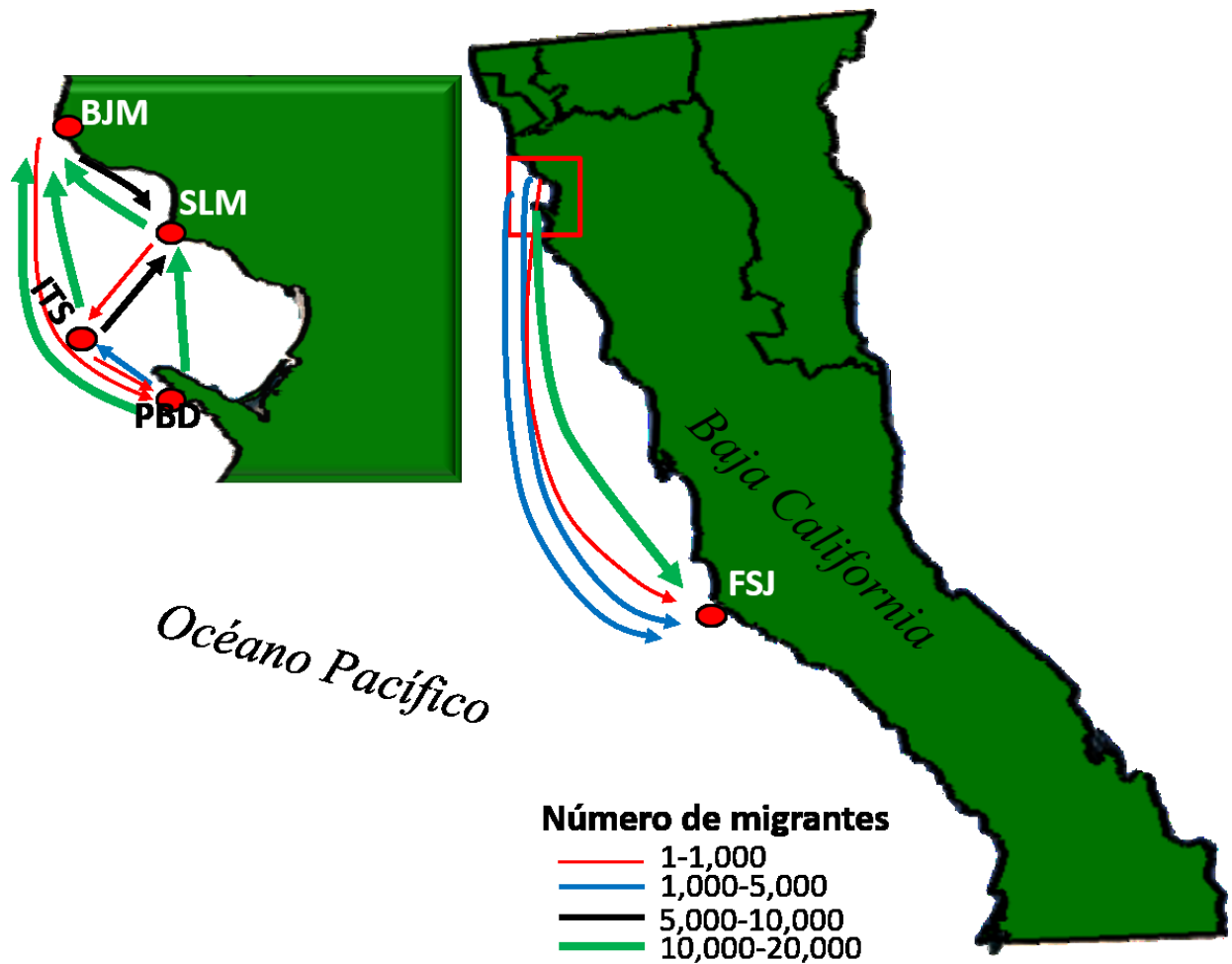


Figura 27. Conectividad entre las localidades analizadas. El grosor de las flechas indica la intensidad del flujo y el color indica el número de migrantes entre localidades.

3.8.2. Cuello de botella

Se realizó el análisis para identificar cuellos de botella pasados o presentes en las ocho localidades. Mediante la prueba de Wilcoxon con el modelo de alelos infinitos (IAM), modelo de mutación en dos fases (TPM) y el modelo de mutación por pasos (SMM). Los resultados demuestran que no se detectaron valores significativos en ninguna localidad ($P > 0.05$, en todos los casos), es decir, no hay huella de un efecto de cuello de botella en el pasado; sin embargo, las poblaciones podrían estar sufriendo tal efecto en la actualidad (Tabla 10).

Tabla 10. Valores de cuello de botella mediante la prueba de Wilcoxon, según los modelos de mutación de microsatélites (IAM es el modelo de alelos infinitos, TPM es modelo de mutación en dos fases y SMM es el modelo de mutación por pasos).

Población	Prueba de Wilcoxon		
	IAM	TPM	SMM
Andrew Molera (CAM)	1.000	0.996	0.766
Point Arguello (CAR)	1.000	0.531	0.148
Bajamar (BJM)	1.000	1.000	0.973
Saldamando (SLM)	1.000	0.992	0.711
Isla Todos Santos (ITS)	1.000	1.000	0.813
Punta Banda (PBD)	0.973	0.945	0.656
Faro San José (FSJ)	1.000	0.996	0.945
Isla Guadalupe (IGP)	0.988	0.945	0.813

Capítulo 4. Discusión

4.1 Diversidad genética

Para los análisis genéticos poblacionales, el tamaño de la muestra (N) es muy importante para los resultados obtenidos en las investigaciones. Se ha reportado que, ampliar las zonas de muestreos y aumentar el tamaño de muestra, permite encontrar mayor variación genética entre localidades y organismos, así como, disminuir las desviaciones en las medias de los parámetros (Nei y Roychoudhury, 1974; Argibay, 2009; Salcido-Guevara *et al.*, 2014; Haas *et al.*, 2019). Una de las consecuencias de no equilibrar las Ns de cada localidad en un análisis es que los resultados pueden no reflejarse de igual manera entre las localidades (Brown, 1991; Salcido-Guevara, *et al.*, 2014). En este estudio, aunque se presentaron diferencias significativas en el número de muestras entre las localidades, esto no afectó al número de alelos identificados en cada zona, reflejándose en que no se detectaron diferencias significativas entre localidades en el número de alelos y la riqueza alélica promedio. Sin embargo, si se observa una tendencia a encontrar mayor número de alelos totales en las localidades con mayor número de muestras con una correlación R^2 igual a 0.911, variando este desde 188 alelos en la localidad de BJM donde se obtuvieron los genotipos de un total de 30 abulones en todos los locus evaluados, hasta un valor mínimo de 120 alelos en la localidad de IGP, donde solo fue posible obtener los genotipos en promedio de 20 abulones (SD= 3.09, rango 14-24) en la mayoría de los loci. Gruenthal y Burton (2008), por su parte al analizar 515 abulones negros (SD=58) obtenidos de once localidades entre los años de 1997/1998 en la zona central de California y 2003/2004 en las islas, y usando cuatro loci microsatélites heterólogos desarrollados para abulón pinto de Alaska *Halotis kamtschatkana assimilis* (Hka), obtuvo un total de 183 alelos (0.36 alelos/muestra) relacionado quizás con la alta proporción de alelos nulos observada (4, 37, 39 y 54% por locus). En nuestro caso, calculamos entre 5.7 y 6.6 alelos/muestra en los diferentes loci (rango n de 20-30 abulones) con porcentajes de alelos nulos estimados que variaron de 0 a 47% (Anexo C; Tabla 21).

Los ocho loci marcadores microsatélites utilizados en el presente estudio fueron desarrollados específicamente para abulón negro, y su evaluación inicial reveló que son altamente polimórficos en las dos localidades evaluadas (Beldade *et al.*, 2012). Con muestras tomadas por estos autores, encontraron entre 13 y 33 alelos por locus en las localidades de abulón negro de Andrew Molera (CAM) y Point Arguello (CAR) donde se evaluaron en total 41 abulones y el porcentaje de alelos nulos varió de 0 a 28%. Mientras que, en nuestros datos e integrando los genotipos de CAM y CAR, proporcionados por Beldade *et al.* (2012), y el resto de las localidades, haciendo un total de ocho localidades analizadas se detectaron un

mínimo de 9 alelos por locus y un máximo de 39 alelos por locus con estos marcadores microsatélites especie-específicos. En este caso, el total de muestras analizadas fue de 219 abulones, y se evidencia una mayor variabilidad genética al ampliar las localidades de muestreo y aumentar el tamaño de muestra. Lo que coincide con trabajos realizados por otros autores (Salcido-Guevara *et al.*, 2014; Haas *et al.*, 2019). Para abulón negro, Gruenthal y Burton (2008), reportaron un número de alelos similares de entre 33 y 51 alelos por locus; sin embargo, ellos analizaron un promedio de 515 abulones/locus (SD=58), más del doble de muestras de este estudio.

Los alelos efectivos, se refiere a los alelos con capacidad de pasar a la siguiente generación, dada su frecuencia. Por lo tanto, los alelos efectivos evidencian la estructura genética pasada, presente y futura de la población, porque, estos son los que se heredan en cada generación colaborando con la variabilidad genética. Además, son los alelos que permanecen en la selección natural y contribuyen a la capacidad de sobrevivencia de la especie (Kimura y Crow, 1964; Nei, 1975; Gutiérrez-González, 2006; Northrop y Connor, 2008). En este estudio, de las ocho localidades analizadas con ocho marcadores, se identificaron que, de los 20 alelos en promedio por localidad, 14 son alelos efectivos, lo que representa el 70%, que se están heredando, ya sea como homocigotos o heterocigotos a las generaciones de abulón negro. El resto, 30% pueden ser alelos raros que presentan baja frecuencia, pudiéndose tratar de alelos nuevos o bien de alelos que se están perdiendo en la población por azar (deriva génica) o por selección natural de genotipos mejor adaptados.

La riqueza alélica, es decir el número promedio de alelos por locus independiente del tamaño de muestra, calculada en las ocho localidades varió de 13 a 17 alelos por locus, y fue mucho más alta que las reportadas para localidades de abulón negro en otras zonas, donde los rangos van de 2 a 3 alelos por locus analizando 11 localidades mediante alozimas (Chambers *et al.*, 2006). Sin embargo, la variación de la riqueza alélica depende del número de muestra y de la calidad de la metodología del muestreo. Estudiar una especie reducida poblacionalmente podría darle más peso a la riqueza alélica, ya que, es probable que se tomen todos los alelos existentes en un pequeño número de organismos (Leberg, 2002; Foulley y Ollivier, 2006; Loeschcke *et al.*, 2013).

Por otra parte, los alelos privados son alelos exclusivos de una población, que pueden estar en frecuencias bajas o altas (Kalinowski, 2004). En este trabajo, la gran mayoría de los alelos privados estuvieron en bajas frecuencias (1-10 %). El número promedio de alelos privados identificados por localidad y por locus no causaron un efecto significativo entre ellas debido a la alta dispersión de los datos. Sin embargo, en

términos de alelos privados totales por localidad, las zonas que presentaron más alelos privados fueron las dos Islas del presente estudio: IGP con 20 alelos privados e ITS con 21. Esto puede generar la separación genética futura de las islas con respecto al continente, y son resultados que coinciden con observaciones realizadas en otras localidades de abulón negro en California, EE. UU. (Chambers *et al.*, 2006; Gruenthal y Burton, 2008; Neuman *et al.*, 2010). Por ejemplo, Chambers *et al.* (2006) observaron alelos exclusivos en las localidades de las islas que no estaban presentes en las localidades de la costa. Por otra parte, en la costa sur de California, Beldade *et al.* (2012), en donde identificaron de 3 a 30 alelos privados en las localidades de Andrew Molera (CAM) y Point Arguello (CAR). En el presente análisis se identificaron solamente 2 y 3 alelos privados en estas localidades con la misma matriz de genotipos del autor original. Esto evidencia que, al agregarse más localidades y aumentar el número de muestras, alelos que se encuentran en baja frecuencia y son más difíciles de captar en un muestreo aumentan su probabilidad de ocurrencia y, por lo tanto, dejan de ser exclusivos de una localidad. En cuanto a microsatélites, se ha reportado que los loci con mayor tamaño en pares de bases, poseen mayor número de alelos privados; estos se identifican en los tamaños alélicos mínimos y máximos, lo que se puede reflejar en el locus HCH_A12, siendo este el de mayor longitud y con mayor número de alelos privados (Szpiech y Rosenberg, 2011).

A pesar de que los alelos de CAM y CAR se ajustaron a la forma de genotipificación del presente estudio, los resultados de H_e y H_o no fueron diferentes a los reportados por Beldade y colaboradores (2012), lo cual indica que no hay diferencias en la forma de genotipificación en los dos estudios. Además, qué, estas dos localidades poseen los valores más altos de H_o y los valores más bajos del coeficiente de endogamia F_{IS} en comparación con las otras seis localidades evaluadas en Baja California. Cabe mencionar que, para el desarrollo de estos marcadores microsatélites se realizó la secuenciación genómica de un abulón negro procedente de Año Nuevo, California, localidad muy próxima a Andrew Molera y Point Arguello. Y muy probablemente debido a la proximidad entre estas localidades y los años de muestreo, la frecuencia de alelos nulos promedio resultó en ellas, con 10% (SD=6.6) en CAM y 13% (SD=7.6) en CAR. Por otra parte, la localidad continental con el mayor déficit de heterocigotos y el índice de endogamia más alto fue Punta Banda (PBD), esto, podría deberse a la metodología del muestreo no destructivo que se realizó, donde en su mayoría se recolectaron organismos muy cercanos entre ellos. Con respecto a las localidades insulares, Isla Guadalupe fue la zona con mayor déficit de heterocigotos, reportándose una H_o y H_e promedio de 0.130 (SD=0.092) y 0.885 (SD=0.082) respectivamente; así como un valor promedio de F_{IS} de 0.861 (SD=0.096). Sin embargo, la localidad de IGP es la más alejada geográficamente del resto y, se desconoce la ubicación exacta dentro de la isla donde se realizó la colecta de los organismos analizados. De hecho,

existe evidencia que dentro de la Isla Guadalupe hay diferencias en las características morfológicas de los abulones negros de acuerdo de su localidad de colecta (Com. Pers Buzz Owen, 2019). Los resultados de H_e , H_o y F_{IS} , en el resto de las localidades de *H. cracherodii* se asemejan a los obtenidos por Chambers *et al.* (2006) en zonas de California; donde se observó que la H_e en todas las localidades era de 0.167 a 0.561, mostrándose un exceso de homocigotos en las localidades. Igualmente, Hamm y Burton (2000) utilizaron aloenzimas y reportaron valores de endogamia un poco más bajos de 0.124 a 0.269, incluso, reportaron exogamia para un loci. Se ha reportado déficit de heterocigotos y valores de endogamia significativos en otras especies de abulón, como *Haliotis rubra* y *Haliotis rufescens* (mínima H_o de 0.339 y F_{IS} máximo igual a 0.508) (Brown, 1991; Córdova-Secundino, 2018). Cuando se tienen cantidades pequeñas de muestras por localidad, se recomienda aumentar el número de marcadores moleculares para su evaluación y/o hacer lo posible por aumentar el número de muestra, con la finalidad de disminuir las variaciones en las medias de los cálculos de H_o , H_e y F_{IS} . Se ha reportado que los abulones negros desovan localmente y que las larvas poseen una dispersión muy corta y pueden tener una alta retención larval relacionada con la topología de la costa y el patrón de corrientes en ella (Chambers *et al.*, 2006). Se cree que esta característica podría ayudar a la recuperación de la especie en su hábitat; sin embargo, esto podría estar causando que las familias se estén reproduciendo entre ellas, provocando un exceso de homocigotos y, por ende, un alto coeficiente de endogamia. Aunque, es común que en los moluscos se reporten valores de endogamia altos e índices de heterocigosidad bajos, esto podría explicarse por la forma de reproducción y la baja capacidad de desplazarse grandes distancias (Hamm y Burton, 2000; Chambers *et al.*, 2005; Chambers *et al.*, 2006; Juanes-Márquez, 2014).

Además de la reproducción local y la baja dispersión larval, a mediados de los 80's las poblaciones de abulón negro fueron afectadas por la bacteria que causa el síndrome de deshidratación, lo que causó la pérdida de la especie hasta un 90%. El cuello de botella fue inminente, lo que pudo ocasionar una disminución importante en la variabilidad genética por la alta mortalidad observada y la desaparición de múltiples generaciones en estos eventos de mortalidad masiva. A lo cual se le puede atribuir los efectos observados en este estudio de heterocigosidades observadas muy por debajo de las esperadas y coeficientes de endogamia muy altos (Nei, and Roychoudhury, 1974; Nei, 1978; Koehn and Gaffney, 1984; Zouros *et al.*, 1988; Hamm y Burton, 2000; Chambers *et al.*, 2005; Chambers *et al.*, 2006; Juanes-Márquez, 2014). Estos resultados coinciden con observaciones en poblaciones de abulón amarillo colapsadas en California en los años 90 y que no se ha recuperado desde entonces, las cuales muestran aislamiento genético, pérdida de diversidad alélica y altos niveles de relación entre individuos (Munguía-Vega *et al.*, 2015).

Al analizar la matriz de genotipos por localidad y microsatélite, se identificó la excesiva presencia de organismos homocigotos, que generalmente, se debe a la inexistencia o la no amplificación de un segundo alelo, dando como resultado un exceso de homocigotos y alelos privados (Oosterhout *et al.*, 2004). Las zonas flanqueantes o extremos del marcador microsatélite son fragmentos altamente conservados, la evolución de dichas zonas trae como consecuencia la mutación o cambios en los nucleótidos. Cuando estos cambios han ocurrido en un organismo heterocigoto, durante el alineamiento en la PCR los cebadores no se incorporan a la secuencia molde, caracterizando a un organismo heterocigoto como un falso homocigoto y mostrando una gran proporción de homocigosis en la población y advertencia de posibles alelos nulos. Sin embargo, el exceso de homocigotos no asegura la presencia real de alelos nulos y puede atribuirse a otros efectos en la población (Brookfield, 1996). Otros motivos que causan una gran proporción de homocigotos son la reestructuración de la población como la selección del locus (selección natural) y la endogamia, apareamiento entre organismos genéticamente similares (Oosterhout *et al.*, 2004; Aranguren-Méndez, 2005; Pérez-Valencia, 2011).

4.2 Diferenciación genética

Aunque algunos pares de localidades presentaron diferencias significativas en distancias genéticas (F_{ST}), estas distancias son muy pequeñas según Hartl y Clark (1997), los autores reportan diferencias pequeñas de 0.00 a 0.05 y diferencias significativas altas con valores mayores a 0.25; sin embargo, el estudio está basado en mamíferos. Los resultados de este trabajo y según los valores de F_{ST} observados en este estudio (0.006 – 0.054), permiten proponer que las distancias de F_{ST} calculadas en pares de localidades significativas van de pequeñamente (0.000 – 0.010) a altamente diferentes (> 0.040). Hamm y Burton (2000) en localidades de abulón negro en California detectaron distancias genéticas muy similares, con valores de F_{ST} en un rango de 0.009 a 0.054 (promedio 0.039). Por su parte, Munguía-Vega *et al.*, (2015) detectó diferencias genéticas significativas entre diferentes localidades de abulón amarillo *H. corrugata*, con valores de F_{ST} más pequeños que los reportados en este estudio (rango de 0.003 a 0.014). Encontrándose las diferencias más grandes entre la localidad de San Diego, California, localidad colapsada por sobreexplotación en los años 90's y cerrada a las pesquerías desde 1997 que a la fecha no se ha recuperado (< 0.005 ind/m²), y el resto de las localidades de Baja California, con valores de F_{ST} de 0.011 a 0.014 altamente significativos ($p < 0.001$). Mientras que Díaz-Viloria *et al.* (2009), también para abulón amarillo encontró diferencias altamente significativas ($F_{ST} = 0.021$; $P < 0.001$) entre la localidad de Isla San Clemente en California y cuatro localidades de Baja California sur (Isla Cedros, Isla Natividad, La Bocana y

San Juanico (rango de F_{ST} = 0.018 a 0.031). En contraste, Córdova-Secundino *et al.* (2018) al evaluar seis localidades silvestres de abulón rojo *H. rufescens* en California y Baja California, encontró valores de F_{ST} significativos entre todos los pares de localidades en un rango de 0.062 a 0.242, valores mucho más altos que los encontrados en abulón negro (este estudio) y abulón amarillo (Díaz-Viloria *et al.*, 2009; Munguía-Vega *et al.*, 2015).

En este estudio, el análisis de variancia molecular (AMOVA) indicó que las diferencias genéticas se deben principalmente a las variaciones que hay entre localidades por los individuos dentro de estas (49%) y a la variación entre todos individuos (49.4%). Mientras que, el análisis de correlación lineal entre las distancias geográficas y genéticas llevado a cabo con la prueba de Mantel, evidenció un aislamiento por distancia entre las localidades evaluadas con un valor máximo de r de 0.70 ($R^2=0.49$) en un rango de distancias de 19 a 1209 km. Sin embargo, cabe resaltar que, no se observaron diferencias significativas cuando los valores de F_{ST} variaron de 0.006 a 0.018 que ocurrieron en un rango de distancias de 19-752 km; y valores mayores a 0.018 (y hasta 0.054) presentan diferencias significativas en distancias de entre 54 y 1209 km. Por otra parte, los resultados de Hamm y Burton (2000) sugieren que las distancias genéticas son independientes a las geográficas a partir de los 300 kilómetros de distancia. Por lo que podemos sugerir que la diferenciación genética entre localidades podría estar mayormente relacionada con la época de desove, la topología costera y el patrón de corrientes en el área, que finalmente influyen en la dispersión larval y la conectividad entre localidades, así como la historia de explotación y manejo del recurso (Munguía-Vega *et al.*, 2015).

Por otra parte, sin incluir IGP, cuando se realizó el análisis de diferenciación genética entre pares de localidades considerando la división de juveniles (<50 mm) y adultos (>50 mm), según las tallas reportadas por la NOAA el abulón alcanza la madurez sexual, no se detectaron diferencias significativas entre las localidades (BJM, SLM, ITS, PBD y FSJ). En un análisis entre cohortes similar, realizado por Chambers *et al.* (2006) reportaron que en algunas de las islas de California identificaron diferencias genéticas significativas entre adultos (>95 mm, a > 5 años), mientras que no se detectaron diferencias entre juveniles (<95 mm; ca. de 2-5 años). Los autores argumentan que tales diferencias podrían deberse a que los adultos son sobrevivientes de un evento que ocurrió a partir de 1985, que deterioró más del 90% las poblaciones de *H. cracherodii* y los juveniles son descendencia de los organismos sobrevivientes (poblaciones remanentes). Además, es posible que exista una presión de selección actuando sobre los reclutas inmigrantes a estas islas, como resultado de una adaptación local a estos hábitats particulares (De Witt y Palumbi, 2013). En este sentido, las muestras de Baja California (BJM, SLM, ITS, PBD y FSJ) se tomaron a finales del año 2017 y a principios del año 2018, por lo que se sugiere que los adultos colectados (>100

mm) son descendencia de los sobrevivientes de la mortalidad por el síndrome de deshidratación que se dio en México. Por lo que, los eventos reproductivos (desoves) que pasaron después del evento de mortalidad produjeron a los juveniles que hoy en día son los adultos de las poblaciones actuales. Por lo que, como se ha discutido anteriormente; en todas las localidades se observa un exceso de homocigosis (déficit de heterocigotos), altos índices de endogamia y se sugiere el posible efecto de cuello de botella que aún está sucediendo.

Las diferencias genéticas significativas que se observaron entre las localidades de abulón negro de California (Andrew Molera y Point Arguello) con respecto a las localidades de Baja California podrían deberse a los diferentes sucesos generacionales (eventos de mortalidades o fenómenos de cambio climático) que sufrió la especie. Las muestras de Point Arguello analizadas por Beldade *et al.* (2012) pertenecer a organismos afectados por el síndrome de deshidratación. Por otra parte, Chambers *et al.* (2006) encontró diferencias genéticas entre adultos y juveniles en algunas localidades. En nuestro caso, fue posible realizar este análisis en la localidad de Saldamando (SLM), donde se contaba con una muestra intermareal (con rango de tallas de 25 a 120 mm) y una muestra submareal tomada a 5 m de profundidad, integrada por adultos (con rango de tallas de 108 a 180 mm), y se evidenció que no existen diferencias entre juveniles y adultos en esta área (datos no mostrados). Lo que sugiere, alta retención larval en Saldamando, como ha sido sugerido por otros autores en otras localidades del centro y sur de California. En general, creemos que las diferencias genéticas observadas entre las dos localidades de California y Baja California se deben a que existe una alta retención larval local, limitada dispersión larval del norte al sur y una baja densidad poblacional que limita un reclutamiento efectivo y la recuperación natural de las poblaciones. A esto, también se le puede agregar la historia de vida de los organismos en ambientes con condiciones oceanográficas diferentes, por ejemplo: diferencias en temperatura dependiendo de la latitud, intensidad de las surgencias a lo largo de la costa, niveles de oxígeno, entre otras variables).

4.3 Estructura poblacional y conectividad entre localidades

La estructura genética poblacional confirmó lo obtenido con los valores de distancias genéticas (F_{ST}). Se formaron cuatro grupos, el primero conformado por las localidades de California, Andrew Molera (CAM) y Point Arguello (CAR). El siguiente grupo se conformó por Bajamar (BJM), Isla Todos Santos (ITS), Punta Banda (PBD) y Faro San José (FSJ), el tercer grupo se conformó solamente con Saldamando (SLM) aunque la estructura no se logró diferenciar claramente, y el cuarto grupo solamente por Isla Guadalupe (IGP).

Mediante las iteraciones alélicas con el método bayesiano y las condiciones que implementó el programa como el modelo admixture (modelo de mezcla) y las frecuencias alélicas correlacionadas, el programa mostró la estructura poblacional ancestral del abulón negro, separando a las localidades CAM, CAR e IGP como antecesoras, lo cual se puede deber a los años de muestreo (2006 y 2013, respectivamente) (Pritchard *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2016). Asimismo, podría estar relacionado con la estructura de edad en las diferentes localidades (cohortes, generaciones).

Para entender cómo es que se da la estructura genética en la población de abulón negro se requiere contar con información del ciclo de vida de los organismos, como: época reproductiva, fecundidad, periodo larval, supervivencia larval, tasa de asentamiento, supervivencia de juveniles post-asentamiento, longevidad, primera madurez sexual y otros aspectos importantes. Sin embargo, en México se cuenta con muy poca información biológica del abulón negro. Por ello, con información obtenida en otras localidades de California se realizó una aproximación del posible escenario en México. Los estudios de Boolootian *et al.* (1962), Webber y Giese (1969), Leighton y Boolootian (1963) y Ortiz (1985) describen las fases de reproducción en abulón negro en algunas localidades de California y en Isla Cedros, Baja California, respectivamente (Tabla 11).

Tabla 11. Estados de desarrollo gonadal del abulón negro reportados en zonas de California y Baja California.

Autor	Meses								Localidad
	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	
Boolootian <i>et al.</i> , 1962	MG	MG	MG	D	D	D	D	R	Hopkins Marine Station
Webber y Giese, 1969	R	R	MG	MG	MG	D	D	D	Cypress Point
Leighton y Boolootian, 1963	MG	MG	MG	MG	D	D	D	D	Point Dume
Ortiz, 1985	R	MG	MG	MG	D	D	R	R	Isla de Cedros

R= Estado de recuperación, MG= Maduración gonadal, D= Desove

De estos estudios, tenemos que Point Dume es la localidad más cercana a nuestras localidades de estudio de BJM, SLM, ITS y PBD. Mientras que, Isla de Cedros es la más cercana a las localidades de FSJ e IGP. Además, las temperaturas se asemejan entre estas localidades previamente estudiadas y las nuestras. La maduración gonadal (MG) en Point Dume se reporta de marzo a junio, con temperaturas que fluctúan entre los 12 a 15°C (Figura 29). Mientras que, en Isla de Cedros la MG inicia hasta el mes de abril y se

extiende hasta junio. Por lo que, es probable que en BJM, SLM, ITS, PBD, FSJ e IGP comience la maduración gonadal del abulón negro a finales de marzo, principios de abril. Mientras que, los desoves están iniciando en julio tanto en Point Dume como en Isla de Cedros, cuando las variaciones de temperatura que van de los 16 a 20°C. Por lo cual, es muy probable que los desoves en nuestra zona de estudio se den en los meses de julio a agosto, pudiéndose extender hasta septiembre y octubre en las localidades más norteñas. Sin embargo, cabe mencionar que, dado que estos estudios fueron realizados en los años 60's, nuestra aproximación puede no ser muy exacta e inclusive en las localidades estudiadas en esa época pueden haber diferencias en la actualidad, debido a la variación y aumento de las temperaturas en los últimos años, agregando los cambios estacionales y de corrientes en la costa del Pacífico de Baja California.

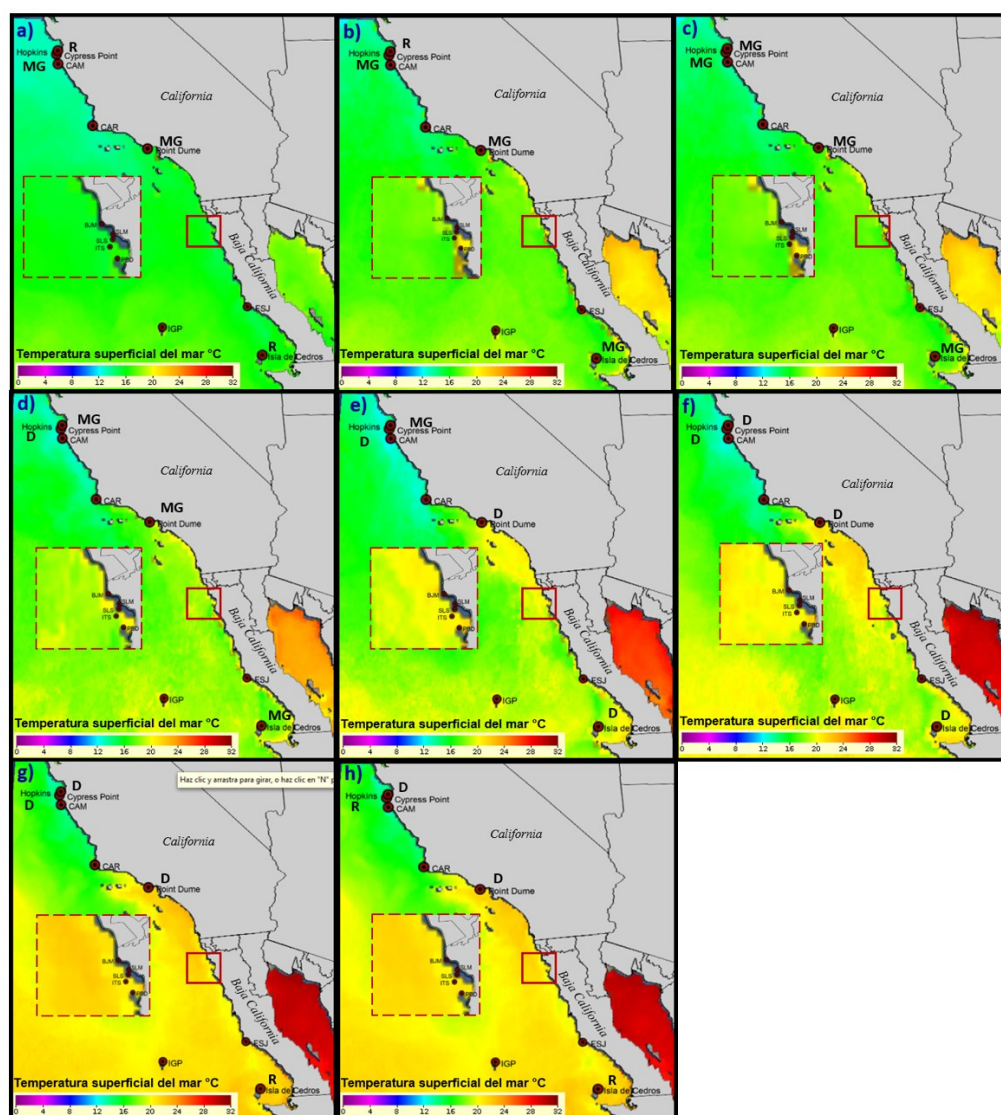


Figura 28. Temperaturas superficiales durante los meses de marzo a octubre y los estados de recuperación (R), maduración gonadal (MG) y desove (D) reportados en localidades de California (Booolootian *et al.*, 1962; Webber y Giese, 1969; Leighton y Booolootian, 1963) e Isla de Cedros en Baja California (Ortiz, 1985). a) = marzo, b) = abril, c)= mayo, d)= junio, e)= julio, f)= agosto, g)= septiembre, h)= octubre.

Con la aproximación del desarrollo gonadal del abulón negro realizado anteriormente, se pueden examinar las corrientes durante esos meses (julio-octubre) y tener una idea de la dispersión larvaria y, por ende, una explicación de la conectividad (flujo génico, número de migrantes) observada entre localidades de Baja California estudiadas en este análisis. Por lo que a continuación se discutirán los resultados de migrantes por generación a nivel de microescala entre localidades BJM, SLM, PBD e ITS con una distancia geográfica entre 19 y 73 km; y a nivel macroescala de este grupo de localidades con la localidad de FSJ, con distancias geográficas de 280 a 353 km. Cabe resaltar que, para este análisis las localidades de California e Isla Guadalupe fueron excluidas por no coincidir los años de muestreos (2017-2018 vs 2006 y 2013, respectivamente). Sin embargo, cabe mencionar que en los resultados encontrados por Díaz-Viloria *et al.* (2009) y por Munguía-Vega *et al.* (2015) con abulón amarillo, donde observan diferencias genéticas entre California y Baja California, atribuibles a la existencia una barrera oceanográfica como el eddy al sur de California. Creemos que, aunque no fue posible evaluar la conectividad de las localidades de CAM y CAR, dado que resultaron genéticamente diferentes en este estudio y presentaron un componente genético particular, la dispersión larval de estas zonas a la Baja California se esperaría fuera poco significativa.

A microescala se observa que las localidades más cercanas de BJM, SLM, PBD e ITS con una distancia geográfica entre 19 y 73 km, presentan un migración de 8,226 migrantes entre ellas con dirección norte-sur, y un total de 65,470 migrantes entre ellas con dirección sur-norte. Mientras que, a macroescala podemos ver que el grupo de localidades del norte (BJM, SLM, PBD e ITS) aportan un total de 20,460 migrantes hacia el sur a la localidad de FSJ que se encuentra sobre la costa entre los 280 y 353 km de distancia de éstas. Por otra, el aporte de migrantes de FSJ al norte resultó nulo. Observando estos valores de migrantes, calculamos que el 69.5% presentan dispersión larval de corta distancia (entre localidades de Bahía Todos Santos) y el 21.8% presentan dispersión larval de larga distancia, siendo capaces de aportar larvas a FSJ (Anexo F, Tabla 27).

En un estudio previo Chambers *et al.* (2005) realizaron una simulación de la dispersión larval de abulón negro, con tarjetas que colocaron a la deriva en la Isla San Nicolás, California. El 40 % de las tarjetas fue encontrada a 2 kilómetros de donde fueron liberadas y el resto dentro de las costas de la Isla San Nicolás. Estos autores concluyeron que, si las larvas de *H. cracherodii* dependen totalmente de las corrientes, su desplazamiento despliegue no es bajo y que la acumulación de las tarjetas en el lugar de liberación sugiere que las larvas se quedan en la zona, propiciando un reclutamiento local que promueve la recuperación de las poblaciones locales. Apoyando el modelo de dispersión larval de distancias cortas, uno de los tres modelos propuestos para la dispersión larval de abulones (Miyake *et al.*, 2017; Figura 29). Sin embargo,

como menciona el autor, existen cuatro factores biológicos que influyen en la dispersión larval, estos son: los desoves, el tiempo de duración en etapa pelágica (de larva trócofora a véliger), el comportamiento vertical y la mortalidad post-asentamiento. Una consideración importante para destacar es que, en la mayoría de los trabajos de dispersión larval, están basados en que una duración de la etapa larval pelágica de 4 a 7 días máximo, la cual varía en dependencia de la temperatura (Leighton, 2000). Sin embargo, en el estudio de McCormick *et al.* (2012), con abulón rojo, se reporta que las larvas pueden retardar su metamorfosis hasta por 20 días después de eclosionar sin un efecto significativo en la supervivencia de juveniles post-asentamiento. Por lo que una duración más prolongada durante la etapa larval pelágica ofrece un potencial de dispersión a mayores distancias. La cual, se observó en nuestro análisis a macroescala, y apoya el modelo de dispersión larval de abulón a distancias largas de su localidad natal (origen) a una localidad remota de destino (Miyake *et al.*, 2017; White *et al.*, 2019).

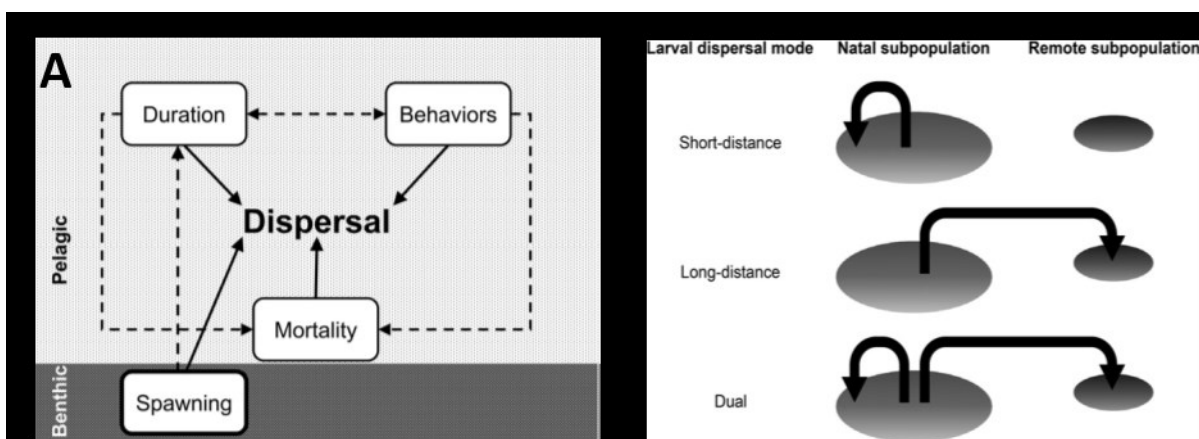


Figura 29. Factores biológicos que influyen en la dispersión larval (A) y modelos de dispersión larval propuesto en abulones (tomadas de Miyake *et al.*, 2017). En A, las líneas sólidas indican la dirección del efecto en la dispersión larval, y las líneas punteadas indican la dirección de las interacciones entre factores. En B, los círculos indican las subpoblaciones (o población local) y las flechas indican la dirección de la dispersión larval.

Durante la época de desoves, los patrones de circulación del agua de mar serán los responsables de la dispersión larval a nivel micro y macro escala espacial. En la zona de estudio, las corrientes que afectan las fluctuaciones oceánicas internas son la corriente de California, la corriente superficial estacionaria y la corriente subsuperficial (Checkley y Barth, 2009).

El análisis de conectividad genética entre localidades de abulón negro mostró que la mayor migración ocurre de sur a norte y que la dispersión de las larvas puede ser local dentro de la Bahía de Todos Santos, pero también sugiere una conectividad entre localidades lejanas. La corriente de California presenta una

influencia de aproximadamente 1000 km de ancho y ocupa los primeros 500 m; su velocidad varía de 12.5 a 25 cm/seg, pudiendo alcanzar velocidades de hasta 50 cm/seg por periodos cortos con un transporte neto de norte a sur ((Schwartzlose y Reid, 1972). Además, estas corrientes en conjunto contribuyen a la formación de ciclones y anticiclones en toda la costa, que se forman cada tres a cinco días y abarcan hasta 5 metros de profundidad. Durante los meses de desove del abulón negro (julio a octubre), las corrientes transportan agua hacia el sur y hacia la costa, y también lejos de la costa, a una velocidad de entre 4 y 8 centímetros s⁻¹. La figura 30 muestra dos remolinos uno anticiclónico y otro ciclónico, con despliegues de norte a sur y de sur a norte respectivamente (Mateos *et al.*, 2009; Vásquez y Gómez-Valdés, 2018).

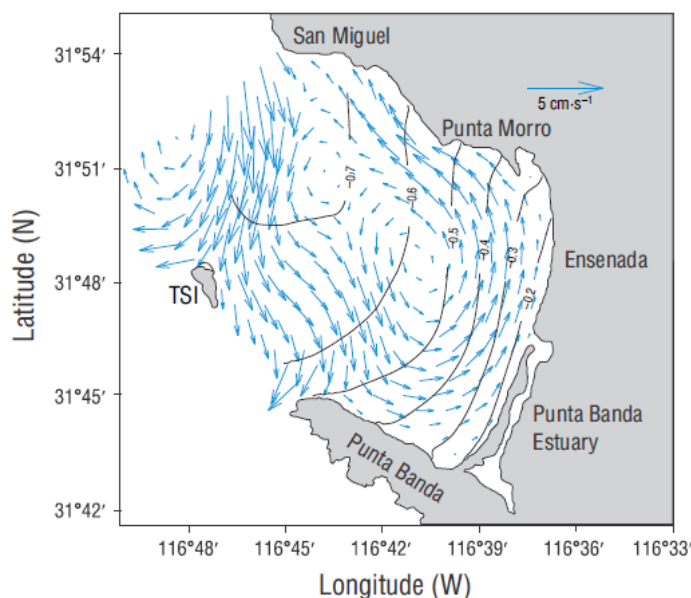


Figura 30. Evento de un remolino ciclónico y anticiclónico durante el mes de agosto. Imagen tomada de Mateos y Marinone (2017).

Después de observar que los resultados de análisis de distancias genéticas, estructuración y migración coincidieron, se prosiguió a la construcción de un dendrograma, donde se confirmaron todos los resultados. Se formaron tres grupos, el primero lo conformaron las localidades de California (Andrew Molera y Point Arguello), estas localidades mostraron diferencias genéticas en el F_{ST} con respecto al resto y se identificaron como una estructura poblacional. El segundo grupo se conformó por dos pequeños conjuntos, el primero por BJM y SLM, estas no presentaron diferencias genéticas, están dentro de una misma estructura y comparten constante flujo genético; en el segundo conjunto se encontraron las zonas de ITS y FSJ, esta agrupación no mostró diferencias genéticas y también se encontró flujo genético entre ellas. El tercer grupo solamente lo conformó Punta Banda e Isla Guadalupe.

En el modelo de alelos infinitos IAM, el modelo de mutación por pasos y el modelo de mutación por dos fases; no se detectó la evidencia de un cuello de botella en el pasado cercano de las localidades. Cuando se forma un cuello de botella las frecuencias alélicas más comunes disminuyen y se queda una población con pocos alelos y con homocigosis. El exceso de homocigotos, los altos índices de endogamia y la prueba de Wilcoxon indican que las localidades de abulón negro estudiadas siguen en un efecto de cuello de botella (Nei *et al.*, 1975; Piry, 1999; Hamm y Burton, 2000; Leberg, 2002; Foulley y Ollivier, 2006; Demarchi, 2009; Peery *et al.*, 2012).

4.4 Isla Guadalupe

Isla Guadalupe fue la población con menos variación genética, la más endogámica, se identificó como una población genéticamente diferente a las ocho poblaciones restantes y se estructuró como una sola población con un único componente. Mientras que, los datos morfológicos de las conchas de los abulones provenientes de la localidad de IGP evidenciaron organismos más pequeños, conchas un poco más arqueada y la presencia de más de nueve poros respiratorios abiertos (Figura 31). El abulón negro de la isla está categorizado taxonómicamente como una subespecie denominada *Haliotis cracherodii californiensis* (Swainson, 1822) con base en las diferencias morfológicas que poseen con respecto a los del continente *Haliotis cracherodii cracherodii* (Geiger y Owen, 2012). Por lo tanto, las diferencias genéticas encontradas en este estudio podrían estar evidenciando una subpoblación diferente o bien soportando que se trate de una subespecie. Sin embargo, los valores de F_{ST} son relativamente muy bajos con los observados en otros organismos marinos con historias de vida que incluyen estadios larvales planctónicos. Pero similares a los encontrados en otros abulones, como amarillo (Díaz-Viloria *et al.*, 2009; Munguía-Vega *et al.*, 2015) y rojo (Córdova-Secundino, 2018).



Figura 31. Características morfológicas de las conchas pertenecientes a la subpoblación de Isla Guadalupe.

4.5 Prospección del abulón negro

En los últimos años se ha observado una recuperación en algunas localidades de abulón negro a lo largo de la costa mexicana. Investigadores del Instituto de Investigaciones Oceanológicas (IIO) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), realizaron muestreos durante 2017-2018 en distintas localidades de Baja California para conocer el estatus del recurso abulón negro. En la Figura 32 se muestran las localidades evaluadas y la densidad de organismos encontradas en org/m² (Ibarra-Macías *et al.*, 2019). De hecho, podemos observar que en Baja California existen localidades con densidades de abulones negros mayores a las reportadas en California de 0.04 org/m² de 2012-2015 (Eckdahl, 2015) en zonas que se consideran están en recuperación. Cabe resaltar también, que se realizó una visita a Isla Guadalupe en junio de 2019, y en entrevista con los pescadores de la cooperativa mencionan que existen localidades con abulón negro ubicadas en zonas peligrosas de acantilados y en áreas que se han visto afectadas por deslizamientos de tierra (Com. Pers. César Cortez, 2019). Por lo cual, debido al riesgo que implica su pesquería en esta isla, este recurso no se ha explotado en más de 10 años.

En algunas localidades de California se ha reportado que antes del evento de mortalidad del síndrome de deshidratación, las densidades por metro cuadrado variaban de 4 a un poco más de 30, en México no hay reportes de dicha densidad antes de la enfermedad, pero las evaluaciones que se han realizado en los últimos años en alrededor de 25 zonas de Baja California han demostrado densidades entre 0.000 a 0.227 m². Los registros en California después del evento informan que la densidad disminuyó por debajo de 1 m² (Butler *et al.*, 2009; Ibarra-Macías *et al.*, 2019). Según los informes de NMFS (2006), la densidad en cada

localidad debe de oscilar entre 0.34 a 1 organismo/m², esto para que se pueda dar una reproducción y reclutamiento exitoso de forma natural. Es decir, las poblaciones de abulón negro en Baja California están muy por debajo de lo requerido para una recuperación natural, por lo cual, se necesitan más análisis genéticos que permitan colaborar con la recuperación de este, y también, al mismo tiempo se pueden monitorear las localidades. El método de muestreo no destructivo permitirá realizarlo, el cual consta de separar al organismo del sustrato, tomarle una pequeña muestra ya sea del epipodio y/o mucus, además de realizar las biometrías necesarias, no causarán un daño en la vida del organismo y por ende no causará daños en las densidades de la población (Slabbert y Roodt-Wilding, 2006).

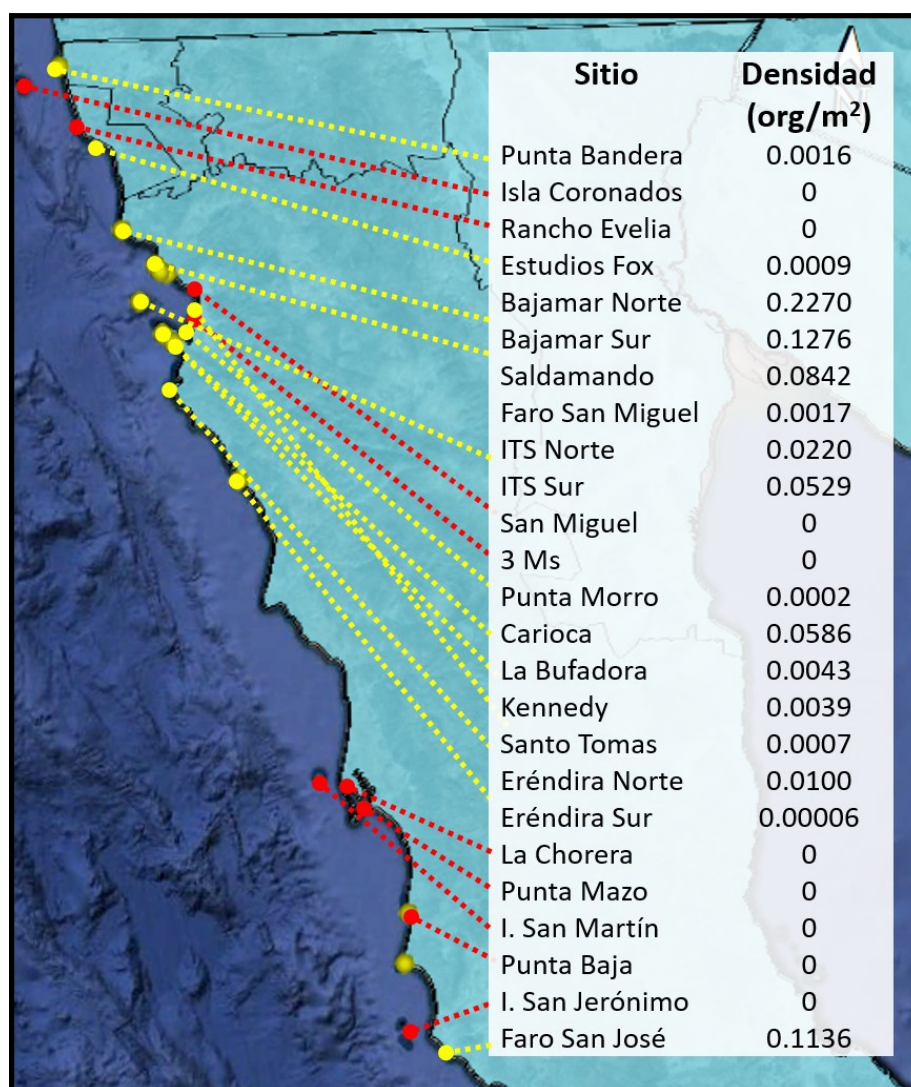


Figura 32. Densidad de abulón negro (org/m²) en diferentes localidades de Baja California evaluadas por Ibarra-Macías y colaboradores (2019) para estimar la recuperación de este recurso en México.

Capítulo 5. Conclusiones

- Las localidades de California, Andrew Molera y Point Arguello, son genéticamente diferentes a las de Baja California, con valores de diferenciación de moderados a altamente significativos (rango F_{ST} = 0.021-0.054).
- Las localidades continentales de Baja California estudiadas (Bajamar, Saldamando, Punta Banda y Faro San José) son genéticamente similares entre ellas.
- Los abulones de Isla Todos Santos presentan dispersión larval de corta y larga distancia (modelo dual), evidenciada por el número de migrantes hacia las diferentes localidades; por lo cual, fue genéticamente similar al resto de las localidades continentales.
- La población de Isla Guadalupe mostró diferencias genéticas significativas altas (rango F_{ST} = 0.028-0.054) del resto de las localidades de California y Baja California, evidenciándose como un grupo único en el análisis de estructura genética.
- El uso de marcadores microsatélite en este estudio sugiere que los abulones de Isla Guadalupe podrían ser una sub-especie, como han demostrado los estudios de taxonomía tradicionales basados en características morfológicas.

Capítulo 6. Recomendaciones

Incrementar el número de localidades y número de muestras para los posteriores análisis.

Utilizar el método de muestreo no destructivo, para evitar remover organismos de su área natural.

Evaluar el ciclo de vida del abulón negro en su hábitat.

Realizar esfuerzos de recuperación de los bancos naturales de abulón negro entre áreas genéticamente similares de Baja California.

Corroborar con estudios de reproducción, morfológicos y otros análisis genéticos (RADseq-SNPs, cariotipo), que el abulón negro de la localidad de la Isla Guadalupe es realmente una subespecie.

Literatura citada

- Aranguren-Méndez, J. A., Román-Bravo, R., Isea, W., Villasmil, Y. y Jordana, J., 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 13 (1), 30-42.
- Argibay, J. C., 2009. Muestra en investigación cuantitativa. *Subjetividad y procesos cognitivos*, 13 (1) 13-29.
- Ault, Jerald S., 1985. Species profiles: life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (Pacific Southwest) black, green, and red abalones. U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep. 82 11.32 U.S. Army Corps of Engineers, TR EL-82-4. 19 pp.
- Bartsch, P., 1940. The West American *Haliotis*. Smithsonian institution U.S. National museum. Washington. 89. No. 3094
- Becerra V., Viviana, y Paredes C., Mario., 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura Técnica*, 60 3, pp. 270-281. <https://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072000000300007>
- Beerli, P. 2004. Migrate documentation. *School of Computational Science and Department of Biological Science. Florida State University, Tallahassee, FL.*
- Beldade, R., Bell, C. A., Raimondi, P. T., George, M. K., Miner, C. M., and Bernardi, G., 2012. Isolation and characterization of 8 novel microsatellites for the black abalone, *Haliotis cracherodii*, a marine gastropod decimated by withering syndrome. *Conservation Genetics Resources* 4 (4), 1071-1073.
- Bohonak, A. J.. 2002. IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity* 93, 153-154.
- Booolootian, R. A., Farmanfarmanian, A., and Giese, A. C. 1962. On the reproductive cycle and breeding habits of two western species of *Haliotis*. *The Biological Bulletin. Marine biological laboratory. University of California*, 122(2), 183-193.
- Braje, T.J, Erlandson J. M. and. Rick, T.C., 2007. An historic chinese abalone fishery on California's Northern Channel Islands. *Historical Archaeology*, 41 (4) 117-128. <https://doi.org/10.1007/BF03377298>
- Brookfield, J., 1996. A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology* 5 (3), 453-455.
- Brown, L. D., 1991. Genetic variation and population stucture in the blacklip abalone, *Haliotis rubra*. *Marine and Freshwater Research* 42 (1), 77-90.
- Butler, J., DeVogelaere, A., Gustafson, R., Mobley, C., Neuman, M., Richards, D., Rumsey, S., Taylor, B. and VanBlaricom, G., 2009. Status review report for black abalone (*Haliotis cracherodii* Leach, 1814). NMFS Southwest Long Beach, CA.
- Castro-Gonzales J. J., F. Caballero-Alegría, J. Talavera-Maya, M. O. Muciño-Díaz, P. y Sierra-Rodríguez. 2004. Evaluación y prospección de abulón negro *Haliotis cracherodii* en la costa occidental de la península de Baja California. INAPESCA. Informe. 40pp.

- Cavalli-Sforza, L. L., and Edwards, A. W., 1967. Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution* 21 (3), 550-570.
- Claria, J., Sánchez, M., y Queralt, R., 2001. Herramientas básicas de análisis genético. *Genética básica*. 5.
- Coombs, J. A., B. H. Letcher, and K. H. Nislow., 2008. CREATE: a software to Return to Table of Contents 6 create input files from diploid genotypic data for 52 genetic software programs. *Molecular Ecology Resources* 8:578-580.
- Córdova- Secundino, P. E., 2018. Diversidad genética de poblaciones naturales y de cultivo de abulón rojo (*Haliotis rufescens*) en localidades de California y Baja California. Tesis de maestría en ciencias. CICESE. Ensenada, Baja California.
- Cox, K. W. 1962. California abalones, family *Haliotidae*. Boletín de los pescados N°18. La agencia de recurso del departamento de pescado y juego de California. Operaciones de recursos marinos 1962. University of California, 97pp.
- Cruz-Flores, R., 2017. Hiperparasitismo en los abulones *Haliotis rufescens*, *Haliotis fulgens* y *Haliotis corrugata* por *Candidatus Xenohaliotis californiensis* y el bacteriófago pCXC: Aislamiento, caracterización y distribución. Tesis de doctorado. Centro de Investigación Científica y de Educación superior de Ensenada Baja California.
- Chambers, M. D., VanBlaricom, G. R, Friedman, C. S., Hurn, H., Garcelon, D., and Schwemm, C., 2005. Drift card simulation of larval dispersal from San Nicolas Island, CA, during black abalone spawning season. In *Proceedings of the Sixth California Islands Symposium*, 421-434. Arcata, CA: Institute for Wildlife Studies.
- Chambers, M. D., VanBlaricom, G. R., Hauser, L., Utter, F., and Friedman, C. S., 2006. Genetic structure of black abalone (*Haliotis cracherodii*) populations in the California islands and central California coast: impacts of larval dispersal and decimation from withering syndrome. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 331 (2), 173-185. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.10.016>
- Delgadillo-Anguiano, C., Lafarga-De la Cruz, F., Lorda, J., Montaña-Moctezuma, G., and Abadía-Cardoso, A. Evaluation Of *Candidatus Xenohaliotis californiensis* (CXC) and its associated phage PCXC in black abalone of Baja California. Poster. Western Society of Naturalists 100th Annual Meeting. Ensenada, B.C. 31 de octubre al 3 de noviembre de 2019. 219 pp.
- Demarchi, D. A., 2009. Microsatélites, distancias genéticas y estructura de poblaciones nativas sudamericanas. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 11 (1), 73-88.
- Desjardins, P., and Conklin, D., 2010. NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids. *JoVE Journal of Visualized Experiments*, 45, e2565.
- Diario Oficial de la Federación (DOF), 2000. Carta nacional pesquera. Pesca extractiva. Pesquerías marinas y costeras. Litoral del Pacífico. Secretaría de medio ambiente, recursos naturales y pesca. Diario oficial de la Federación. Segunda sección (pp. 4). Consultado en: <https://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/carta-nacional-pesquera/Carta-Nacional-Pesquera-2000.pdf>

- Diario Oficial de la Federación (DOF), 2004. Carta nacional pesquera. Pesquerías marinas y costeras. Litoral del Pacífico. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Segunda sección. (pp. 4). Consultado en: <https://www.gob.mx/inapesca/documentos/carta-nacional-pesquera-2004>
- Diario Oficial de la Federación (DOF), 2006. Carta nacional pesquera. Pesquerías marinas y costeras. Litoral del Pacífico. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Segunda sección. (pp. 4). Consultado en: <https://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/carta-nacional-pesquera/Carta-Nacional-Pesquera-2006.pdf>
- Diario Oficial de la Federación (DOF), 2010. Carta nacional pesquera. Pesquerías marinas y costeras. Litoral del Pacífico. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Segunda sección. (pp. 117). Consultado en: <https://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/carta-nacional-pesquera/Carta-Nacional-Pesquera-2010.pdf>
- Diario Oficial de la Federación (DOF), 2012. Diario Oficial de la Federación. Carta nacional pesquera. Pesquerías marinas y costeras. Litoral del Pacífico. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Segunda sección. (pp. 5). Consultado en: <https://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/carta-nacional-pesquera/Carta-Nacional-Pesquera-2012.pdf>
- Diario Oficial de la Federación (DOF). 2017. Carta nacional pesquera. Pesquerías marinas y costeras. Litoral del Pacífico. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Segunda sección. (pp. 5). Consultado en: <https://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/carta-nacional-pesquera/Carta-Nacional-Pesquera-2012.pdf>
- Díaz-Viloria, N., Druz, p., Guzmán-Del Próo, S. y Perez-Enriquez, R., 2009. Genetic connectivity among pink abalone *Haliotis corrugata* populations. Journal of Shellfish Research Vol. 28, No. 3, 599–608.
- Earl, Dent A. and vonHoldt, Bridgett M., 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources, 4 (2), 359-361 doi: 10.1007/s12686-011-9548-7
- Eckdahl, K. A. 2015. Endangered black abalone (*Haliotis cracherodii*) abundance and habitat availability in southern California. California State University, Fullerton. 104pp.
- Ellegren, H., 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. Nature reviews genetics, Vol. 5 (6), 435-445.
- Excoffier, L. G. Laval, and S. Schneider., 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online 1:47-50.
- Falush, D., Dorp, L. and Lawson, D. j., 2016. A tutorial on how (not) to over-interpret STRUCTURE/ADMIXTURE bar plots. BioRxiv. Doi: <https://doi.org/10.1101/066431>
- Ferreira, M. E., y Grattapaglia, D., 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Federal District, Brazil: Embrapa. Books.google.com.mx/books?id=QqtsmwEACAAJ

- Fortes G., G., 2008. Desarrollo de un mapa genético con marcadores AFLP y microsatélite en rodaballo (*Scophthalmus maximus* L.). Tesis de doctorado en ciencias. Universidad de Santiago de compostela: Facultad de Biología. Departamento de Genética. Pp. 32.
- Foulley, J. L. and Ollivier, L., 2006. Estimating allelic richness and its diversity. ELSEVIER, Livestock Science, 101, pp. 150-158. Doi: 10.1016/j.livprodsci.2005.10.02118711413.
- Geiger, D. L. 2004. AbMap: The abalone mapping project. Consultado en 2019 de: <http://www.vetigastropoda.com/ABMAP/text/index.htm>.
- Geiger, D. L., and Owen, B., 2012. Abalone: world-wide *Haliotidae*. ConchBooks.
- Geiger, D. L., and Poppe, G. T., 2000. A conchological iconography: The family Haliotidae. ConchBooks. Geiger, D. L. 2004. AbMap: The abalone mapping project. Consultado en 2019 de: <http://www.vetigastropoda.com/ABMAP/text/index.htm>.
- González-Avilés, J. G. y Ortiz-Quintanilla, M. 1986. Estudios sobre madurez, índice gonadal y fecundidad en abulón negro, *Haliotis cracherodii* (Mollusca: Gasteropoda), a partir de muestras colectadas en la Isla Cedros, Baja California en junio de 1982. En Contribuciones Biológicas y Tecnológico-pesqueras, Documento Técnico Informativo No. 1, marzo de 1986. Secretaría de Pesca, Instituto Nacional de Pesca, Centro Regional de Investigación Pesquera, Ensenada, Baja California Norte, México.
- Goudet, J. 2002. Fstat software. Institute of Ecology BB, UNIL.
- Gruenthal, K. M., y Burton, R. S., 2008. Genetic structure of natural populations of the California black abalone (*Haliotis cracherodii* Leach, 1814), a candidate for endangered species status. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 355 (1), 47-58.
- Gutiérrez-González, J. L., 2006. Estudio de la estructura genético poblacional de abulón azul, *Haliotis fulgens* en Baja California, México. Tesis de doctorado en ciencias. Centro de investigaciones biológicas del noroeste, S. C. La Paz Baja California sur.
- Gutierrez, C. M. y Hogarth W., 2006. Petition to list the black abalone (*Haliotis chracherodii*) as threatened or endangered under the Endangered Species Act. Center for Biological Diversity. Joshua Tree, CA, EUA. 40 p.
- Haaker, P.L., Parker, D.O., and Chun, C.S.Y., 1995. Growth of black abalone, *Haliotis cracherodii* Leach, at San Miguel Island and Point Arguello, California. J. Shellfish Res. 14, 519–525. Consultado en: Chambers, M. D., VanBlaricom, G. R., Hauser, L., Utter, F., y Friedman, C. S. 2006. Genetic structure of black abalone (*Haliotis cracherodii*) populations in the California islands and central California coast: impacts of larval dispersal and decimation from withering syndrome. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 331 (2), 173-185.
- Haas, H., Braje, T. J., Edwards, M. S., Erlandson, J. M., and Whitaker, S. G., 2019. Black abalone (*Haliotis cracherodii*) population structure shifts through deep time: Management implications for southern California's northern Channel Islands. Ecology and evolution 9 (8), 4720-4732.
- Hamm, D. E., and Burton, R. S., 2000. Population genetics of black abalone, *Haliotis cracherodii*, along the central California coast. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 254 (2), 235-247.

- Hartl, D. L., Clark, A. G., and Clark, A. G., 1997. Principles of population genetics. 116 Sunderland, MA: Sinauer associates.
- Ibarra-Macias, B., Montaña-Moctezuma, G., Raimondi, P.T., Fletcher, N., Beas-Luna, R., Abadia-Cardoso, A., Lorda-Solorzano, J., and Lafarga-de la Cruz, F. 2019. Black abalone status in Baja California, Mexico. Identifying critical sites to promote its recovery. Western Society of Naturalists 100th Annual Meeting. Ensenada, B.C. 31 de octubre al 3 de noviembre. 219 pp.
- Juanes-Márquez, S. 2014. Estimación del coeficiente de endogamia por máxima verosimilitud. Proyecto de fin de carrera. Universidad politécnica de Catalunya Facultad de matemáticas y estadística. Departamento de estadística e investigación operativa. 54 pp.
- Kalinowski S., 2004. Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. Conservation Genetics 5: 539–543
- Karpov, K. A., P. L. Haaker, I. K. Taniguchi and L. and Rogers-Bennett. 2000. Serial depletion and the collapse of the California abalone fishery. En: Campbell, A. (Ed). 2000. Workshop on Rebuilding Abalone Stocks in British Columbia. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. 130. 158 p.
- Kessing, B., Croom, H., Martin, A., McIntosh, C., Mcmillan, W. O., and Palumbi, S., 1989. The simple fool's guide to PCR. University of Hawaii, Honolulu.
- Kimura, M., and Crow, J. F., 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics, 49 (4), 725.
- Koehn, R. K., and Gaffney, P. M. 1984. Genetic heterozygosity and growth rate in *Mytilus edulis*. Marine Biology, 82 (1), 1-7.
- Langella, O., 2007. Populations 1.2. 30: Population genetic software (individuals or populations distances, phylogenetic trees). <http://www.bioinformatics.org/~tryphon/populations/>.
- Leberg, P. L., 2002. Estimating allelic richness: effects of sample size and bottlenecks. Molecular ecology, 11 (11), 2445-2449.
- Leberg, P. L., 2002. Estimating allelic richness: effects of sample size and bottlenecks. Molecular ecology, (11) 11, 2445-2449.
- Leet WS, Dewees CM, Klingbeil R, and Johnson E.J., editors. 2001. California's living marine resources: a status report. Sacramento: State of California Resources Agency and Fish and Game. 593 p.
- Leighton, D., and Boolootian, R. A. 1963. Diet and growth in the black abalone, *Haliotis cracherodii*. Ecology, Ecological Society of America, 44 (2), 228- 238.
- León-Carballo, G and Muciño-Díaz, M., 1996. Pesquería de abulón. Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur, Centro de investigaciones Biológicas del Noroeste, SC., La Paz, 15-41.
- Li, Q., and Kijima, A., 2005. Segregation of microsatellite alleles in gynogenetic diploid Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*). Marine biotechnology, 7 (6), 669-676.
- Loeschcke, V., Tomiuk, J., and Jain, S. K. (Eds.) 2013. Conservation genetics. 68 Birkhäuser.

- Mantel, N. A., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.*, 27:209-220.
- Mateos, E. y Marinone, S.G., 2017. Variabilidad de corrientes por propagación de ondas en Bahía de Todos Santos, Baja California, México. *Ciencias marinas*, 43 (3), 191-201.
- Mccormick, T. B., Buckley, L. M., Navas, G., Barber, G., Billups, B., Gill, V., and Sayre, J., 2012. Larval competency of red abalone (*Haliotis rufescens*): a new timeframe for larval distribution. *Journal of Shellfish Research*, 31(4), 1183-1188.
- Metz, E. C., Robles-Sikisaka, R., and Vacquier, V. D., 1998. Nonsynonymous substitution in abalone sperm fertilization genes exceeds substitution in introns and mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95 (18), 10676-10681.
- Miner, C. M., Altstatt, J. M., Raimondi P. T. y Minchinton T. E., 2006. Recruitment failure and shifts in community structure following mass mortality limit recovery prospects of black abalone. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 327:107–117 Overall Status and Threats Assessment of Black Abalone (*Haliotis cracherodii* Leach, 1814) Populations in California. Available from: https://www.researchgate.net/publication/277531661_Overall_Status_and_Threats_Assessment_of_Black_Abalone_Haliotis_Cracherodii_Leach_1814_Populations_in_California
- Miyake, Y., Kimura, S., Horii, T., and Kawamura, T. 2017. Larval dispersal of abalone and its three modes: a review. *Journal of shellfish research*, 36(1), 157-168.
- Morris, R. H., D. L. Abbott and E. C. Haderlie. 1980. Intertidal invertebrates of California. Palo Alto, CA: Stanford University Press. 1–690.
- Munguía-Vega, A., Sáenz-Arroyo, A., Greenley, A. P., Espinoza-Montes, J. A., Palumbi, S. R., Rossetto, M., and Micheli, F. 2015. Marine reserves help preserve genetic diversity after impacts derived from climate variability: Lessons from the pink abalone in Baja California. *Global Ecology and Conservation*, 4, 264-276.
- National Marine Fisheries Service (NMFS), 2016. Recovery Plan Outline for Black Abalone (*Haliotis cracherodii*). West Coast Region. 30 pp.
- National Marine Fisheries Service (NMFS), 2018. Black abalone: five-year status review: summary and evaluation. Protected resources division, Long Beach, California. 34 pp.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individual. Center for demographic and population genetics, university of Texas at Houston, Texas. *Genetics*, 89, 583-590.
- Nei, M., 1975. Molecular population genetics and evolution. North-Holland research monographs frontiers of biology. 40. University of Texas at Houston.
- Nei, M., and Roychoudhury, A. K., 1974. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, 76 (2), 379-390.
- Nei, M., Maruyama, T., and Chakraborty, R., 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29 (1), 1-10.

- Neuman, M., Tissot, B., and Vanblaricom, G. 2010. Overall status and threats assessment of black abalone (*Haliotis cracherodii* Leach, 1814) populations in California. National Shellfisheries Association. Bio one Complete. Journal of Shellfish Research, 29 (3), 577-586.
- Northrop, R. B., and Connor, A. N., 2008. Introduction to molecular biology, genomics and proteomics for biomedical engineers. The biomedical engineering series. CRC Press.
- Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P., and Shipley, P., 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes, 4 (3), 535-538.
- Peakall, R. and Smouse P.E., 2012. GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics 28, 2537-2539. Freely available as an open access article from: <http://bioinformatics.oxfordjournals.org/content/28/19/2537>
- Peery, M. Z., Kirby, R., Reid, B. N., Stoelting, R., Doucet-B  er, E., Robinson, S., Vásquez-Carrillo, C., Pauli, j. N. and Palsboll p. j., 2012. Reliability of genetic bottleneck tests for detecting recent population declines. Molecular Ecology, 21 (14), 3403-3418. Doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05635.x.
- Pérez-Valencia, L., 2011. Variabilidad genética de la almeja de sif  n *Panopea globosa* (Dall, 1898) en el noroeste de México. Tesis de maestría. Centro de investigaciones biológicas del noroeste, S.C. La Paz, B.C.S. 75 pp.
- Piry, S., Luikart, G. Cournet, J.M., 1999. Bottleneck: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. The journal of heredity, 90 (4), 502-503.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., y Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155 (2), 945-959.
- Raimondi, P. T., C. M. Wilson, R. F. Ambrose, J. M. Engle, T. E. Minchinton., 2002. Continued declines of black abalone along the coast of California: are mass mortalities related to El Niño events? Mar. Ecol. Prog. Ser. 242:143–152
- Rambaut, A., and Drummond, A. J. 2012. FigTree version 1.4. 0.
- Rice, W. R., 1989. Analyzing tables of statistical tests. Evolutio 43 (1), 223-225.
- Rousset, F., 2008. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. Molecular ecology resources 8 (1), 103-106.
- Salcido-Guevara, L. A., Sánchez-Cárdenas, R., y Gutiérrez-González, J. L., 2014. Esfuerzo de muestreo mínimo para la estimación de la densidad y la biomasa del abulón azul *Haliotis fulgens* de Bahía Magdalena, Baja California Sur. *Ciencia Pesquera*, 22 (2), 79-84.
- Searcy-Bernal, R., Ramade-Villanueva, M. R., and Altamira, B. 2010. Current status of abalone fisheries and culture in Mexico. Journal of Shellfish Research, 29 (3), 573-576. <https://doi.org/10.2983/035.029.0304>
- Secretaría de Pesca y Acuicultura de Baja California (SEPESCABC). 2000-2018. Carta Estatal Pesquera. Gobierno del Estado de Baja California. Litoraria, S.C.236 PP. Recuperado el 12/1019.

- Selvamani, M. J. P., Degnan S. M. and Degnan, B. M., 2001. Microsatellite Genotyping of individual abalone larvae: parentage assignment in aquaculture. *Marine Biotechnology* 3 (5), 478-485. <https://doi.org/10.1007/s1012601-0062-X>
- Shepherd, S. A., Tegner, M. J., and Guzman del Proo, S. A., 1992. Abalone of the world: biology, fisheries and culture. Proceedings. Reprinted 1996, Blackwell Science: Oxford, 123.
- Sierra-Rodríguez, P., Muciño-Díaz, M., Gutiérrez-González J. L. and Turrubiates-Morales J. R., 2006. La pesquería del abulón. Sustentabilidad y pesca responsable en México. Evaluación y manejo. Instituto Nacional de la Pesca. La paz, B. C. S., 1-38.
- Slabbert, R. y Roodt-Wilding, R. 2006. Muestreo no destructivo de abulón juvenil utilizando tentáculos epipodiales y moco: método y aplicación. *African Journal of Marine Science*, 28 (3-4), 719-721.
- Smith, G., Stamm, C. and Petrovic, F. 2003. *Haliotis cracherodii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2003: e.T41880A10566196. McGill University. Descargado el 11 September 2019.
- Szpiech, Z. A., and Rosenberg, N. A., 2011. On the size distribution of private microsatellite alleles. *Theoretical population biology*, 80 (2), 100-113.
- Valles, Ríos. H., 2000. Análisis histopatológico del abulón negro *Haliotis cracherodii* afectado por el síndrome de deterioro. SAGARPA, Instituto Nacional de la Pesca. Ciencia Pesquera. Centro regional de investigación pesquera de Ensenada 14 5-18.
- Vásquez, H. J. y Gómez-Valdés, J., 2018. Relajación del viento y flujos hacia el polo en la región de surgencias frente a Baja California, México. *Ciencias Marinas* 44 (2), 59-70.
- Webber, H. H. and Giese, A. C., 1969. Reproductive cycle gametogénesis in the black abalone *Haliotis cracherodii* (Gasteropoda: Prosobranchiata). *Marine Biology* 4, 152-159.
- White, J. W., Carr, M. H., Caselle, J. E., Washburn, L., Woodson, C. B., Palumbi, S. R., and Blanchette, C. A. 2019. Connectivity, Dispersal, and Recruitment. *Oceanography* 32(3), 50-59.
- Yáñez, G., C., Zambrano M., J. L., Caicedo, M., Sánchez, A., V., H., y Heredia, J. 2003., Catálogo de recursos genéticos de maíces de altura ecuatorianos. Programa de maíz. INIAP-EESC. 152 pp.
- Zamora-García, N. I. 2016. La pesca ilegal de abulón en la Península de Baja California: cuantificación y normatividad. Tesis de maestría en ciencias. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, B. C. S. 98 pp.
- Zhang, J. H., Wang, F., and Wang, T. Y., 2011. A simple and effective SuperBuffer for DNA agarose electrophoresis. *Gene* 487 (1), 72-74.
- Zouros, E., Romero-Dorey, M., and Mallet, A. L., 1988. Heterozygosity and growth in marine bivalves: further data and possible explanations. *Evolution* 42 (6), 1332-1341.

Anexos

Anexo A: Diversidad genética de localidades estudiadas

En todas las tablas que se presentan a continuación, las abreviaciones se refieren a: N=Número de muestras analizadas, Na= Número de alelos, Ne= Número de alelos efectivos, Ra= Riqueza alélica, Ap= Número de alelos privados, Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada, FIS= Coeficiente de endogamia, EHW= Equilibrio de Hardy Weinberg, Dh= Déficit de heterocigotos. También se muestra la media, DE= desviación estándar, Min= valor mínimo, Max= valor máximo de cada variable (*=P <0.05 significativo, **=P<0.01 muy significativo y ***=P<0.001 altamente significativo).

Tabla 12. Resultados de la diversidad alélica en la población Andrew Molera, California (CAM).

Loci	N	Na	Ne	Ra	Ap	Ho	He	Fis	EHW	Dh
A2	21	22	15	18	1	0.952	0.933	0.156*	***	**
A7	21	15	11	13	0	0.714	0.912	0.343*	***	***
A11	21	17	10	14	2	0.810	0.901	0.126	0.105	0.055
A12	20	19	11	15	0	0.500	0.906	0.469*	***	***
B4	19	13	8	12	0	0.684	0.882	0.250*	0.082	***
B11	21	12	10	11	0	1.000	0.900	-0.087	0.584	1.000
C2	20	19	15	16	0	0.900	0.931	0.272*	***	***
C8	21	15	11	13	0	0.667	0.907	0.288*	***	***
Total		132	91	113	3					
Media	21	17	11	14	0.375	0.778	0.909	0.227		
DE	0.756	3.381	2.248	2.263	0.744	0.168	0.017	0.166		
Min	19	12	8	11	0	0.500	0.882	0		
Max	21	22	15	18	2	1.000	0.933	0.469		

Tabla 13. Resultados de la diversidad alélica en la población Point Arguello, California (CAR).

Loci	N	Na	Ne	Ra	Ap	Ho	He	Fis	EHW	Dh
A2	18	20	13	17	1	0.833	0.924	0.423*	***	**
A7	20	16	9	13	0	0.800	0.889	0.125	**	**
A11	20	11	6	9	0	0.600	0.833	0.303*	*	***
A12	20	21	16	17	1	0.400	0.939	0.591*	***	***
B4	20	13	7	11	0	0.600	0.849	0.316*	**	***
B11	20	11	8	10	0	0.900	0.881	0.118	0.072	0.103
C2	20	20	14	17	0	0.850	0.926	0.268*	***	***
C8	20	20	16	17	0	0.850	0.939	0.278*	***	***
Sumatoria		132	89	112	2					
Media	20	17	11	14	0.25	0.729	0.897	0.303		
DE	0.707	4.309	4.196	3.494	0.463	0.176	0.041	0.154		
Min	18	11	6	9.408	0	0.400	0.833	0.118		
Max	20	21	16	17.477	1	0.900	0.939	0.591		

Tabla 14. Resultados de la diversidad alélica en la población Bajamar, México (BJM).

Loci	N	Na	Ne	Ra	Ap	Ho	He	Fis	EHW	Dh
A2	30	25	19	18	2	0.333	0.947	0.658*	***	***
A7	30	23	15	17	1	0.300	0.934	0.688*	***	***
A11	30	19	15	15	1	0.100	0.934	0.896*	***	***
A12	30	37	33	23	8	0.433	0.969	0.565*	***	***
B4	30	25	17	17	1	0.600	0.941	0.377*	***	***
B11	30	15	9	12	0	0.567	0.888	0.377*	***	***
C2	30	23	17	17	2	0.333	0.943	0.656*	***	***
C8	30	21	17	16	0	0.800	0.939	0.165*	**	**
Sumatoria		188	142	135	15					
Media	30	24	18	17	2	0.433	0.937	0.548		
DE	0.000	6.392	6.737	3.020	2.588	0.217	0.023	0.230		
Min	30	15	9	12	0	0.100	0.888	0.165		
Max	30	37	33	23	8	0.800	0.969	0.896		

Tabla 15. Resultados de la diversidad alélica en la población Saldamando intermareal, México (SLM).

Loci	N	Na	Ne	Ra	Ap	Ho	He	Fis	EHW	Dh
A2	30	23	16	16	1	0.467	0.937	0.514*	***	***
A7	30	20	14	15	1	0.333	0.928	0.651*	***	***
A11	30	22	19	17	1	0.033	0.946	0.966*	***	***
A12	30	34	26	21	2	0.367	0.961	0.629*	***	***
B4	30	22	15	16	1	0.733	0.934	0.231*	***	***
B11	30	16	9	13	1	0.467	0.889	0.488*	***	***
C2	30	20	15	15	0	0.267	0.931	0.722*	***	***
C8	30	24	14	16	2	0.733	0.931	0.228*	***	***
Sumatoria		181	127	129	9					
Media	30	23	16	16	1	0.425	0.932	0.554		
DE	0.000	5.208	4.781	2.501	0.641	0.234	0.021	0.248		
Min	30	16	9	13	0	0.033	0.889	0.228		
Max	30	34	26	21	2	0.733	0.961	0.966		

Tabla 16. Resultados de la diversidad alélica en la población Isla Todos Santos, México (ITS).

Loci	N	Na	Ne	Ra	Ap	Ho	He	Fis	EHW	Dh
A2	29	24	15	16	5	0.310	0.934	0.677*	***	***
A7	30	22	16	16	1	0.333	0.939	0.655*	***	***
A11	30	15	11	12	1	0.067	0.907	0.929*	***	***
A12	30	39	31	23	10	0.500	0.968	0.496*	***	***
B4	29	24	15	16	0	0.793	0.935	0.169*	*	**
B11	30	11	7	9	0	0.433	0.865	0.512*	***	***
C2	30	24	16	16	2	0.400	0.937	0.584*	***	***
C8	30	23	17	16	2	0.800	0.939	0.165*	*	***
Sumatoria		182	128	127	21					
Media	30	23	16	16	3	0.455	0.928	0.523		
DE	0.463	8.172	6.851	3.864	3.378	0.247	0.030	0.257		
Min	29	11	7	9	0	0.067	0.865	0.165		
Max	30	39	31	23	10	0.800	0.968	0.929		

Tabla 17. Resultados de la diversidad alélica en la población Punta Banda, México (PBD).

Loci	N	Na	Ne	Ra	Ap	Ho	He	Fis	EHW	Dh
A2	28	22	9	16	3	0.250	0.889	0.727*	***	***
A7	28	18	13	14	0	0.286	0.923	0.700*	***	***
A11	27	30	26	21	10	0.222	0.961	0.776*	***	***
A12	27	27	21	19	1	0.296	0.953	0.699*	***	***
B4	28	22	14	16	0	0.571	0.930	0.401*	***	***
B11	28	12	7	10	1	0.357	0.857	0.595*	***	***
C2	28	20	14	15	4	0.250	0.929	0.739*	***	***
C8	28	20	16	16	0	0.893	0.936	0.064*	0.129	0.157
Sumatoria		171	120	127	19					
Media	28	21	15	16	2	0.391	0.922	0.588		
DE	0.463	5.476	6.081	3.245	3.420	0.231	0.034	0.243		
Min	27	12	7	10	0	0.222	0.857	0.064		
Max	28	30	26	21	10	0.893	0.961	0.776		

Tabla 18. Resultados de la diversidad alélica en la población Faro San José, México (FSJ).

Loci	N	Na	Ne	Ra	Ap	Ho	He	Fis	EHW	Dh
A2	30	30	20	19	2	0.467	0.949	0.521*	***	***
A7	30	19	15	15	1	0.267	0.932	0.722*	***	***
A11	28	15	11	12	1	0.107	0.909	0.886*	***	***
A12	29	31	25	21	7	0.310	0.961	0.686*	***	***
B4	30	26	18	17	1	0.733	0.944	0.239*	***	***
B11	30	12	8	10	0	0.400	0.875	0.555*	***	***
C2	30	16	12	13	1	0.267	0.919	0.718*	***	***
C8	30	21	13	15	1	0.733	0.921	0.220*	**	***
Sumatoria		170	121	123	14					
Media	30	21	15	15	2	0.411	0.926	0.568		
DE	0.744	7.086	5.566	3.588	2.188	0.225	0.027	0.237		
Min	28	12	8	10	0	0.107	0.875	0.220		
Max	30	31	25	21	7	0.733	0.961	0.886		

Tabla 19. Resultados de la diversidad alélica en la población Isla Guadalupe, México (IGP).

Loci	N	Na	Ne	Ra	Ap	Ho	He	Fis	EHW	Dh
A2	18	16	14	15	1	0.056	0.927	0.943*	***	***
A7	24	15	11	13	1	0.083	0.908	0.912*	***	***
A11	14	13	11	13	7	0.143	0.911	0.854*	***	***
A12	22	22	19	18	1	0.136	0.947	0.862*	***	***
B4	19	9	3	8	1	0.105	0.693	0.855*	***	***
B11	22	15	10	13	4	0.227	0.899	0.757*	***	***
C2	21	11	7	10	0	0.000	0.862	1.000*	***	***
C8	21	19	14	16	5	0.286	0.930	0.705*	***	***
Sumatoria		120	89	107	20					
Media	20	15	11	13	3	0.130	0.885	0.861		
DE	3.091	4.175	4.738	3.257	2.507	0.092	0.082	0.096		
Min	14	9	3	8	0	0.000	0.693	0.705		
Max	24	22	19	18	7	0.286	0.947	1.000		

Anexo B: Alelos privados

Tabla 20. Número de alelos privados por marcadores microsatélite y localidades evaluadas.

Locus	CAM	CAR	BJM	SLM	ITS	PBD	FSJ	IGP	MEDIA	DE	TOTAL
HCH_A2	1	1	2	1	5	3	2	1	2	1.4	16
HCH_A7	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0.5	5
HCH_A11	2	0	1	1	1	10	1	7	3	3.6	23
HCH_A12	0	1	8	2	10	1	7	1	4	3.9	30
HCH_B4	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0.5	4
HCH_B11	0	0	0	1	0	1	0	4	1	1.4	6
HCH_C2	0	0	2	0	2	4	1	0	1	1.5	9
HCH_C8	0	0	0	2	2	0	1	5	1	1.8	10
Media	0.38	0.25	1.88	1.13	2.63	2.38	1.75	2.50			
DE	0.74	0.46	2.59	0.64	3.38	3.42	2.19	2.51			
TOTAL	3	2	15	9	21	19	14	20			

Anexo C: Alelos nulos

Tabla 21. Porcentaje de alelos nulos por marcadores microsatélite y localidades evaluadas.

Locus	CAM	CAR	BJM	SLM	ITS	PBD	FSJ	IGP	Media	DE
HCH_A2	6	19	32	24	32	34	25	45	27	11.5
HCH_A7	15	5	33	31	31	33	34	43	28	12.1
HCH_A11	5	13	42	47	44	38	42	40	34	15.8
HCH_A12	21	28	26	30	24	34	33	42	30	6.6
HCH_B4	11	13	18	10	7	19	11	35	15	8.9
HCH_B11	0	4	17	23	23	27	25	35	19	11.8
HCH_C2	12	12	31	34	28	35	34	46	29	11.8
HCH_C8	13	12	7	9	7	2	10	33	12	9.3
Media	10	13	26	26	25	28	27	40	40	10
DE	6.6	7.6	11.2	12.6	12.6	12.0	11.4	5.0		

Tabla 22. Prueba de Tukey, donde se muestran las diferencias significativas entre pares de localidades respecto al porcentaje de alelos nulos.

Población	CAM	CAR	BJM	SLM	ITS	PBD	FSJ	IGP
CAM				0-	-	-	-	-
CAR	0.997			-	-	-	-	-
BJM	0.062	0.273		-	-	-	-	-
SLM	*	0.228	1.000		-	-	-	-
ITS	0.097	0.374	1.000	0.999		-	-	-
PBD	*	0.121	0.999	0.999	0.999		-	-
FSJ	*	0.174	0.999	1.000	0.999	1.000		-
IGP	***	***	0.119	0.146	0.0763	0.268	0.195	-

Valores de significancia: $P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$ y $P < 0.001^{***}$

Tabla 23. Prueba de Tukey, donde se muestran las diferencias significativas entre pares de marcadores microsatélites respecto al porcentaje de alelos nulos.

Locus	A2	A7	A11	A12	B4	B11	C2	C8
A2		-	-	-	-	-	-	-
A7	1.000		-	-	-	-	-	-
A11	0.944	0.978		-	-	-	-	-
A12	1.000	1.000	0.996		-	-	-	-
B4	0.457	0.349	0.044	0.224		-	-	-
B11	0.817	0.715	0.170	0.552	0.999		-	-
C2	1.000	1.000	0.992	1.000	0.268	0.616		-
C8	0.140	0.094	0.007	0.051	0.998	0.918	0.065	

Valores de significancia: $P < 0.05^*$, $P < 0.01^{**}$ y $P < 0.001^{***}$

Anexo D: Valores de F_{ST}

Tabla 24. Valores de distancias genéticas significativos y no significativos entre pares de localidades.

Orden por valor de F_{ST}				Orden por distancia (Km)			
Pares no significativos		F_{ST}	Km	Pares no significativos		Km	Fst
BJM	SLM	0.006	19	BJM	SLM	19	0.006
BJM	ITS	0.007	43	ITS	PBD	30	0.017
ITS	FSJ	0.012	310	BJM	ITS	43	0.007
CAM	CAR	0.013	239	BJM	PBD	73	0.015
BJM	FSJ	0.013	353	CAM	CAR	239	0.013
BJM	PBD	0.015	73	PBD	FSJ	280	0.018
CAM	BJM	0.016	752	ITS	FSJ	310	0.012
ITS	PBD	0.017	30	BJM	FSJ	353	0.013
PBD	FSJ	0.018	280	CAM	BJM	752	0.016

Tabla 25. Transformaciones realizadas a los valores de distancias genéticas.

Modelo	Intercepto	Pendiente	N	Z	r	R ²	P Valor
F_{ST_Km}							
Estimado	0.00839	0.00003	28	388.0992	0.6524	0.426	0.0078
Error estándar	0.00279	0.00000					
$F_{ST}/(1-F_{ST})_Km$							
Estimado	8206	0.00003	28	401.2193	0.6506	0.423	0.0087
Error estándar	0.00296	0.00001					
F_{ST_LogKm}							
Estimado	-0.02686	0.02042	28	1.7589	0.6308	0.398	0.0044
Error estándar	0.00789	0.00311					
$F_{ST}/(1-F_{ST})_LogKm$							
Estimado	-0.02907	0.02159	28	1.813	0.6262	0.392	0.0045
Error estándar	0.00838	0.00330					
$\text{Log } F_{ST_LogKm}$							
Estimado	-2.68400	0.40830	28	-113.9806	0.7015	0.492	0.0045
Error estándar	0.14500	0.05710					

Anexo E: Estructura

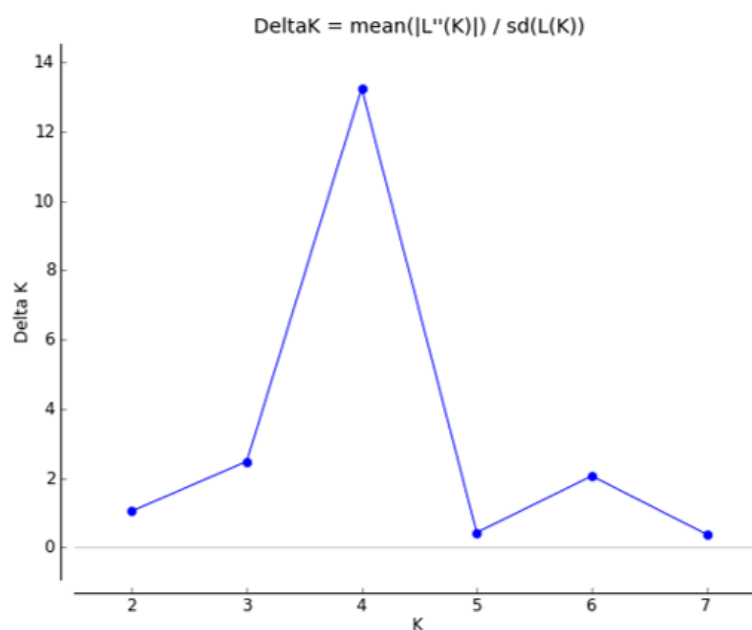


Figura 33. Inferencia de los grupos reales $k=4$ por structure harvester.

Tabla 26. Porcentaje de permanencia en grupos inferidos con el programa structure.

Localidades	Porcentaje de grupos inferidos			
	1	2	3	4
CAM	73.1%	10.9%	10.1%	5.8%
CAR	78.1%	15.9%	2.6%	3.4%
BJM	24.4%	36.9%	24.3%	14.4%
SLM	15.7%	34.9%	41.7%	7.8%
ITS	14.3%	36.2%	21.1%	28.4%
PBD	19.7%	31.3%	24.7%	24.4%
FSJ	24.3%	35.5%	22.7%	17.5%
IGP	8.5%	6.6%	21.6%	63.4%

Anexo F: Migración

Tabla 27. Tabla de migración de norte a sur y de sur a norte entre localidades costeras de Baja California

Norte a Sur		Sur a Norte			
BJM-SLM	7,610	SLM-BJM	12,200		
BJM-ITS	0	ITS-BJM	14,100		
BJM-PBD	92	PBD-BJM	14,600		
BJM-FSJ	1,570	FSJ-BJM	0		
SLM-ITS	127	ITS-SLM	8,290		
SLM-PBD	0	PBD-SLM	12,000		
SLM-FSJ	410	FSJ-SLM	0		
ITS-PBD	397	PBD-ITS	4,280		
ITS-FSJ	1,980	FSJ-ITS	0		
PBD-FSJ	16,500	FSJ-PBD	0		
Total	28,688	Total	65,470		
		Migración neta	94,158		
Migración Norte a Sur (BTS a FSJ)		20,460	21.8%	se aporta a FSJ	Dispersión larval a larga distancia
Migración Norte a Sur (entre BTS)		8,226	8.7%	retenido en la zona	Dispersión larval a
Migración Sur a Norte (entre BTS)		65,470	69.5	retenido en la zona	corta distancia
Total		94,156	100%		