



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL PEZ DORADO *Coryphaena hippurus* EN EL OCÉANO PACÍFICO MEDIANTE MARCADORES MICROSATELITALES

T E S I S

que para obtener el grado académico de

MAESTRA EN CIENCIAS

(Biología Marina)

P R E S E N T A:

BIOL. NATALIA JULIANA BAYONA VÁSQUEZ

Director de Tesis

Dr. PÍNDARO DÍAZ JAIMES

Comité Tutorial

Dra. IRENE BARRIGA SOSA

Dr. MANUEL URIBE ALCOCER

Dr. JUAN NÚÑEZ FARFAN

Dr. HUGO AGUIRRE VILLASEÑOR

México, D.F. 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de Datos del Jurado

<p>1. Datos del alumno Bayona Vásquez Natalia Juliana 56589841 Universidad Nacional Autónoma de México Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología Orientación en Biología Marina</p>
<p>2. Datos del Tutor Dr. Píndaro Díaz Jaimes</p>
<p>3. Datos del sinodal 1 Dr. Manuel Uribe Alcocer</p>
<p>4. Datos del sinodal 2 Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa</p>
<p>5. Datos del sinodal 3 Dr. Juan Núñez Farfán</p>
<p>6. Datos del sinodal 4 Dr. Hugo Aguirre Villaseñor</p>
<p>7. Datos del trabajo escrito Caracterización genética del Dorado <i>Coryphaena hippurus</i> en poblaciones del Océano Pacífico mediante marcadores microsatelitales. 2010</p>

A Juanita y Sarita.

¿Qué es el mar? Para el pez volador el mar es una isla rodeada de tierra por toda parte.

J.A.N.

Q.P.D

Agradecimientos

En este recorrido en el cual me ha puesto el destino y en el que he decidido sumergirme hasta que no sobre un aliento, he tenido la fortuna de ser guiada y ¿por qué no? también distraída por personas maravillosas que han forjado el camino que he venido labrando.

Desafortunadamente ni la memoria ni el espacio en éste escrito ayudan para reconocer lo que cada quien ha cultivado en mi ser y el papel que cada uno de ellos ha jugado en formar mi tesis, pues he de decir que la tesis no es solo un proyecto académico el cual van a ver plasmado en las casi noventa hojas que forman éste documento, sino también, desde mi perspectiva significa todo lo compartido, aprendido, sentido y expresado en el desarrollo de la misma.

En principio quiero y debo agradecer a mi familia. A mi mami por tener el tesón, la paciencia y sobre todo ese amor de madre que nos ha permitido naufragar a las añoranzas que la distancia hace que se multipliquen en los más profundo del sentimiento. A mi papi por la comprensión, el respaldo y la ternura que me expresa en cada momento y que me hace sentirlo cerca y cuyas palabras de amor jamás se acaban y me nutren como el río al mar. A mi hermanita Laura, por ser ejemplo de fortaleza y bondad, incentivo a lograr objetivos por un buen camino y luchar sin desfallecer. A mi hermanito Dani a quién admiro por su inteligencia, quién me hace la vida alegre no solo por su manera de ser, sino por haberme dado la fortuna de ser tía de la hermosa Juanita. A mi hermanita Sarita quién se ha convertido también en una razón más para seguir adelante y enseñarle pronto todas las cosas maravillosas que nos brinda el hecho de vivir. A mi cuñada, tías, tíos, primos, primas. Mis roomies Sebitas y Ale que se han convertido en mi nuevo hogar. Amigos y amigas que son como hermanos(as) de aquí y de allá, con quienes comparto risas repletas de buenos recuerdos.

Al bonito, por convertirse en compañía constante y mi guardián en tierras lejanas, quién me permitió entrar a su familia y ser orgullosa parte de la misma. Por hacerme enojar y reír, pero sobretodo por siempre estar allí y sencillamente brindarme amor. Por lo que he me has enseñado y hemos vivido.

Al Laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos por recibirme y hacerme parte de su familia. Al Dr. Píndaro quién ha sido un buen maestro y guía y ha depositado la confianza en mí. A mis compañeras quienes hacen que el ambiente sea agradable y de quiénes aprendo mucho. A los sinodales por invertir dedicación y hacerme aportes que nutrieron éste proyecto. Al Posgrado y al CONACYT por el respaldo y apoyo económico brindado.

Y a Diosito.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema de un individuo de la especie <i>C. hippurus</i> L.1758. Fuente: FAO Fisheries and Aquaculture Department http://www.fao.org/fishery/species/3130/en	Pag. 6
Figura 2	Mapa de distribución de la especie <i>C. hippurus</i> . Fuente: FAO Fisheries and Aquaculture Department http://www.fao.org/fishery/species/3130/en	Pag. 8
Figura 3	Circulación superficial en el Océano Pacífico. Fuente: Reid (1997)	Pag. 17
Figura 4	Sistema de Corrientes. Fuente: Norris (2000)	Pag. 18
Figura 5	Estimación de la producción anual de carbono orgánico en aguas superficiales en el mundo basado en imágenes satelitales. Fuente: Norris (2000)	Pag. 19
Figura 6	a) Ubicación de los puntos de colecta en el Océano Pacífico. b) Acercamiento a la península de California señalando los puntos de colecta ubicados en las costas mexicanas.	Pag. 27
Figura 7	Prueba de LnP (D) desarrollada por STRUCTURE (Pritchard, <i>et al</i> 2000). Grafica obtenida para K=13, en donde cada color representa una localidad y denota la asignación de cualquier genotipo a cualquier localidad.	Pag. 47
Figura 8	Estadístico <i>ad hoc</i> de Evanno ΔK calculado con los datos arrojados en el modelo de mezcla y correlación de frecuencias sin información <i>a priori</i> de la procedencia de las muestras	Pag. 48
Figura 9	Prueba de LnP(D) desarrollada por STRUCTURE (Pritchard <i>et al.</i> , 2000). Gráfica obtenida para K=13, en donde cada color representa una localidad. Bajo los parámetros de mezcla y correlación de frecuencias y el modelo de información poblacional.	Pag. 49
Figura 10	Estadístico <i>ad hoc</i> de Evanno ΔK para cada valor de K, calculado con los datos arrojados en el modelo de mezcla y correlación de frecuencias con información <i>a priori</i> de la procedencia de las muestras	Pag. 49
Figura 11	Árbol obtenido mediante el método UPGMA, realizado con los F_{ST} 's linearizados de Slatkin.	Pag. 50
Figura 12	Gráfica de los patrones alélicos y la heterocigosidad media para cada una de las poblaciones.	Pag. 55
Figura 13	Región Biogeográfica del Pacífico Tropical Oriental (PTO) en donde se indican las tres principales provincias y sus límites. En puntos rojos se señalan las localidades muestra que pertenecen a alguna provincia.	Pag. 61

LISTA DE TABLAS

Tabla 1	<i>Primers</i> microsatelitales para <i>C. hippurus</i> .	Pag. 29
Tabla 2	Número de muestras analizado (N) por <i>locus</i> por población.	Pag. 37
Tabla 3	Índices de diversidad genética para el dorado, <i>Coryphaena hippurus</i> , por población por <i>locus</i> .	Pag. 38-40
Tabla 4	Alelos privados por población de <i>locus</i> .	Pag. 41
Tabla 5	Estimados de diferenciación genética (F_{ST}) entre localidades de <i>Coryphaena hippurus</i> .	Pag. 44
Tabla 6	Análisis de Varianza Molecular AMOVA para poblaciones del Océano Pacífico de <i>Coryphaena hippurus</i>	Pag. 46
Tabla 7	Estimaciones de N_e reciente (método exceso de heterocigotos EH y método desequilibrio de ligamiento DL) e histórico con cinco <i>loci</i> microsatelitales en el dorado	Pag. 51
Tabla 8	Matrices bidireccionales de proporción de migración m . a) tasa de migración reciente calculada en BayesAss. b) tasa de migración histórica calculada en MIGRATE	Pag. 53
Tabla 9	Reporte en toneladas métricas (tm) anuales promedio capturadas en cada país.	Pag. 65

Índice

I. Resumen	2
II. Abstract	3
III. Introducción	4
IV. Antecedentes	6
4.1 Biología del Dorado	6
4.1.1 Posición taxonómica y clasificación	6
4.1.2 Distribución y hábitos migratorios	7
4.1.3 Ecología trófica	9
4.1.4 Ciclo de Vida	10
4.1.5 Características reproductivas	10
4.2 El Dorado como recurso pesquero en el Océano Pacífico	13
4.3 Características oceanográficas del Océano Pacífico	16
4.3.1 Circulación	16
4.3.2 Corrientes	16
4.3.3 Surgencias y productividad primaria	18
4.4 La genética de poblaciones como herramienta de conservación del recurso	20
V. Hipótesis	24
VI. Objetivos	25
6.1 Objetivo general	25
6.2 Objetivos específicos	25
VII. Metas	26
VIII. Metodología de investigación	26
8.1 Área de estudio	26
8.2 Colecta de muestras	28
8.3 Extracción de ADN genómico	28
8.4 <i>Primers</i> y amplificación por PCR	28
8.5 Genotipificación	29
8.6 Análisis de datos	30

8.6.1	Análisis de diversidad genética	30
8.6.2	Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento	31
8.6.3	Análisis de estructura poblacional	31
8.6.4	Análisis de aislamiento por distancia	34
8.6.5	Estimación de tamaño efectivo poblacional y número de migrantes	35
IX.	Resultados	37
9.1	Genotipificación	37
9.2	Análisis de datos	38
9.2.1	Análisis de diversidad genética	38
9.2.2	Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento	41
9.2.3	Estructura poblacional	42
9.2.4	Análisis de aislamiento por distancia	50
9.2.5	Estimación de tamaño efectivo poblacional y número de migrantes	50
X.	Discusión	54
10.1	Diversidad genética y equilibrio de Hardy-Weinberg	54
10.2	Estructura poblacional en el Océano Pacífico	57
10.3	Tamaño efectivo poblacional y flujo génico	64
10.4	Implicaciones para el manejo y la conservación	66
XI.	Conclusiones	68
XII.	Referencias bibliográficas	69
XIII.	Apéndice	82

I. Resumen

El dorado, *Coryphaena hippurus*, es un pez epipelagico de distribución global en mares tropicales y subtropicales, restringido a aguas más cálidas de 20°C. Es un recurso explotado por pesquerías flotas comerciales y deportivas a lo largo de su rango de distribución y cuya captura con fines comerciales ha aumentado en las últimas décadas.

Algunos estudios se han adelantado para contribuir al conocimiento de los *stocks* presentes a escala mundial. Sin embargo, ninguno de estos ha sido concluyente sobre la estructura poblacional de la especie. Lo cual hace imperante el planteamiento y desarrollo de investigaciones cuyo objeto sea dilucidar los patrones genéticos del dorado. Lo anterior, con ánimos de brindar bases para la delineación de directrices para un adecuado manejo del recurso mediante la proposición de unidades de pesca.

Para contribuir al conocimiento de los patrones genéticos espaciales en poblaciones del océano Pacífico, se evaluaron los niveles de variabilidad genética y conectividad, mediante la amplificación de cinco *loci* microsatelitales en un total de 720 individuos de dorado provenientes de 13 localidades muestreadas dentro de la cuenca oceánica, ocho de las cuales se encuentran dentro territorio Mexicano (La Paz, Cabo San Lucas, Guaymas, Bahía Magdalena, Punta Lobos, Puerto Madero, Mazatlán y región oceánica), además de muestras provenientes de Perú, Ecuador, Hawái, Japón y Nueva Caledonia. Los resultados arrojan una señal de diferenciación en poblaciones del Océano Pacífico, que aunque es pequeña es significativa ($F_{ST} = 0.006$, $p = 0.002$), que sugerimos esta particionada de acuerdo a las regiones biogeográficas del Pacífico Este, estos resultados son atribuidos a características biológicas de la especie tales como dispersión limitada debido a fidelidad a sitios de agregación, estadio larvario y tiempos generacionales cortos, además porque su movilidad se encuentra restringida a la temperatura superficial del agua. Por lo cual estos resultados deben ser considerados como evidencia de heterogeneidad genética y por lo tanto, presencia de *stocks* del dorado en el Océano Pacífico.

Es recomendable el desarrollo de estudios que incluyan más y diversos tipos de marcadores moleculares. Además de contar con muestreos con rangos de cobertura mayor y tamaños muestrales más grandes, así como análisis temporales de los mismos. Para definir e identificar de forma certera los patrones genéticos de la especie.

II. Abstract

Dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, is an epipelagic fish species that are distributed worldwide in tropical and subtropical seas, restricted to waters warmer than 20°C. It constitutes a resource exploited by commercial fleets and sport fishing throughout its range of distribution and its capture has increased in recent decades.

Few studies have contributed to the knowledge about stocks structure on a global scale. Nevertheless, none of them has been conclusive regarding the population structure of the species. Consequently, it is important to propose and develop research with the aim of elucidate the genetic patterns of dolphinfishes. All of this, to provide some bases for the delineation of guidelines for the suitable resource management through proposing fishing units.

To contribute to the knowledge of spatial genetic patterns in populations from the Pacific Ocean, we evaluated the genetic variability and connectivity by amplifying five microsatellite loci in a total of 720 dolphinfishes from 13 localities sampled in the ocean basin, eight of them are within the Mexican territory (La Paz, Cabo San Lucas, Guaymas, Bahía Magdalena, Punta Lobos, Puerto Madero, Mazatlán and oceanic region), as well as samples from Peru, Ecuador, Hawaii, Japan and New Caledonia. The analysis shows a small but significant differentiation of populations from the Pacific Ocean ($F_{ST}= 0.006$, $p= 0.002$), and suggests that the partition accords with the East Pacific Biogeographic Regions. These results are attributed to biological characteristics of species such as limited dispersion due to aggregation site fidelity, short larval and generation times and also because their mobility is restricted to the surface water temperature. This should be considered as an evidence of genetic heterogeneity and therefore of the existence of dolphinfish stocks in the Pacific Ocean.

It is recommended to develop studies involving more and different types of molecular markers. Sampling with larger coverage range and sample sizes, designed for an appropriate temporal and spatial analysis, to then be able to identify and define the genetic patterns of the species.

III. Introducción

Los recursos genéticos para alimento y agricultura son la base biológica de la seguridad alimentaria del mundo y, directa, o indirectamente, son los medios de subsistencia de toda persona sobre la Tierra (<http://www.fao.org/biodiversity/geneticresources/en/>). La comunidad internacional y la FAO, han reconocido la necesidad de la comprensión de los procesos en los ecosistemas y en particular, las características biológicas, físicas y químicas de los hábitats acuáticos, en el mantenimiento de la productividad de las pesquerías. Los beneficios de este conocimiento no están tan solo en los ingresos que puede generar la pesca, sino que también en los servicios que aportan el ecosistema y conservación del mismo (FAO, 2007).

La mayoría de las especies de peces para el consumo humano se obtienen mediante la explotación de poblaciones silvestres. Sin embargo, en casi todos los casos el manejo de las pesquerías se enfoca en características de interés; la abundancia del recurso y la talla requerida para su captura. Este enfoque a corto-plazo puede ser económicamente ventajoso, pero a largo plazo puede causar la extinción de las poblaciones como se ha corroborado con datos recientes (Çiftci & Okumus, 2002).

Cuando no existen programas de manejo adecuados en las pesquerías, éstas pueden ejercer de cierta forma fuertes presiones de selección sobre las poblaciones, mimas que en especies como el dorado se han hecho evidentes. Por ejemplo, la selección de tallas, que consiste simplemente en la captura de individuos de mayor tamaño, principalmente en pesca deportiva, lo cual rezaga las poblaciones a individuos juveniles y probablemente inmaduros, que no pueden de forma inmediata aportar descendencia. Adicionalmente, puede existir una selección de género, que ocasiona una desviación en las proporciones debido al comportamiento diferencial entre machos y hembras (Oxenford, 1999; Arocha *et al.* 1999; Lasso & Zapata, 1999). Otro tipo de selección, debida también a la etología de la especie, es la captura de juveniles que tienden a tener hábitos agregados sobre objetos flotantes, que ocasiona que las poblaciones silvestres paulatinamente se dirijan a una alteración en la estructura de edades. De esta forma, estas presiones selectivas particulares ocasionan desequilibrio en las características de la historia de la vida de las poblaciones, lo cual se puede traducir en un desplome de la dinámica de las poblaciones que pone en riesgo a las mismas.

Muchas especies de peces marinos pelágicos que se encuentran ampliamente distribuidos, mantienen pesquerías comerciales y recreativas a lo largo de su rango de distribución, como es el caso del dorado. Poco se sabe acerca de su estructura genética poblacional, a pesar de que esta clase de información es base para la definición de unidades de manejo en pesquerías, para la evaluación de interacciones pesqueras, y en una escala de tiempo mayor, para la conservación de la variación genética (Graves, 1998).

Por lo general, existen niveles bajos de diferenciación genética en los peces pelágicos (Ward *et al.*, 1994), sin embargo existen factores físicos como la separación espacial y temporal de las poblaciones, frentes oceánicos, entre otras, que limitan el libre flujo genético y las cuales pueden promover aislamiento y estructuración de las poblaciones. Además de agentes intrínsecos de la historia de vida de las especies, como migraciones a sitios de reproducción o alimentación definidos.

Debido a limitaciones en cuanto a tiempo y recursos, no ha sido posible evaluar la base genética de todas las especies pelágicas, y las agencias de manejo han tenido que hacer inferencias a partir de estructuras poblacionales de otras especies que son relacionadas taxonómicamente o ecológicamente similares. La amplia variación en la estructura poblacional observada sobre peces marinos cosmopolitas sugiere que estas inferencias son inapropiadas. Asumir que existe un solo *stock* cuando podrían existir múltiples, podría resultar en medidas de manejo inadecuadas que permitan la explotación excesiva de una unidad genética, y resulten consecuentemente en la pérdida de variaciones genéticas únicas (Graves, 1998). Por lo cual, en genética de la conservación un objetivo común es el distinguir *stocks* genéticos y facilitar así la formulación de directrices.

El concepto de *stock* es ampliamente discutido por su importancia en el manejo de pesquerías y se define como grupos semi-discretos de peces con atributos definibles de interés administrativo, que a su vez contemplan aspectos de migración y uso del hábitat (Begg *et al.*, 1999). Booke (1999), enfatiza que cualquier concepto de *stock* debe ser aplicado con base en el uso de marcadores heredables y que debe ser concebido como un grupo específico de peces junto con su hábitat.

Son muchas las consideraciones con respecto a la conservación de los recursos marinos en la legislación internacional las que para su implementación exitosa, requieren del desarrollo de información científica acerca de aspectos demográficos y de genética de poblaciones (Avise, 1998).

Lo anterior, refleja la necesidad de evaluar la homogeneidad de la población del Dorado en espacio, con la finalidad de definir unidades de manejo y conservación, para que de esta forma sea posible plantear estrategias de manejo y monitoreo del recurso, y en consecuencia se impulse la preservación del recurso en términos de producción y capacidad de respuesta a las presiones de pesca.

Los microsatélites se han convertido en el marcador preferido en varios estudios debido a sus altos niveles de variabilidad que los hacen altamente informativos. La facilidad y confiabilidad al trabajarlos, resultado de su herencia mendeliana y característica codominante, así como por tratarse de fragmentos pequeños, abundantes y bien distribuidos en los genomas, hacen de éste marcador uno de los más utilizados en estudios genéticos.

IV. Antecedentes

4.1 *Biología del Dorado*

4.1.1 Posición taxonómica y clasificación

El Dorado, *Coryphaena hippurus*, Linneus 1758 (Figura 1), pertenece a la familia Coryphaenidae, que se compone de un solo género que consta de dos especies; *C. hippurus* y *C. equiselis*. Ambas difieren en el número y forma de radios en las aletas, número de vertebras, tamaño y forma de parches dentales y la coloración de los peces en estado juvenil (Gibbs & Collette, 1959; Patthoff, 1980; Palko *et al.* 1982).

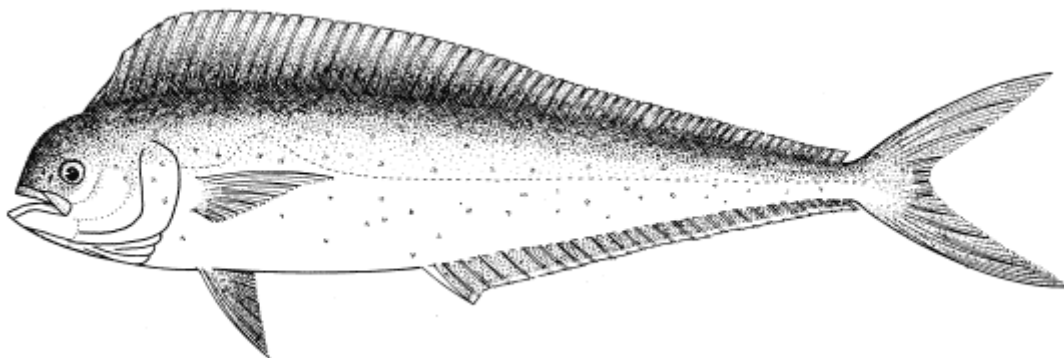


Figura 1. Esquema de un individuo de la especie *C. hippurus* L. 1758. Fuente: FAO Fisheries and Aquaculture Department, <http://www.fao.org/fishery/species/3130/en>

La familia Coryphaenidae pertenece a la clase Osteichthyes o Teleósteos y al orden Perciformes. Sin embargo, existe debate acerca de la clasificación de ésta familia dado que las similitudes con los miembros del orden aun no son claras (Palko *et al.*, 1982).

En este sentido, Nelson (1994) sugirió que la familia Coryphaenidae es hermana de la familia Rachycentridae y Echenidae, y juntas forman un grupo monofilético. Lo cual fue posteriormente validado mediante dos análisis filogenéticos. El primero, utilizó 138 caracteres putativos informativos en 11 especies de la superfamilia Echeneoidea los cuales formaron un árbol parsimonioso monofilético de la familia con las siguientes relaciones: Coryphaenidae + (Rachycentridae + (*Echeneis* sp + *Remora* sp)) (O'toole, 2002). La segunda aproximación fue hecha mediante el análisis de secuencias de los genes mitocondriales 12S rRNA, 16S rRNA, ND2 e ITS-1, en el cual se resolvió la monofilia de Rachycentridae + Coryphaenidae, grupo hermano de Echenidae, el cual también es monofilético (Gray *et al.*, 2009).

4.1.2 Distribución y hábitos migratorios

El dorado es una especie altamente migratoria, son rápidos nadadores, epipelagicos de distribución circumtropical dentro de la franja de los 47° N y 38° S, 180° W y 180° E (Fig. 2); con una aparente extensión de hábitat hacia el polo norte que coincide con el incremento de las temperaturas oceánicas y una disminución en las zonas de surgencias en la costa norte Mexicana (Norton, 1999). Presenta una distribución vertical entre 0-85 m. Aparentemente restringidos a aguas más cálidas que 20° C (Gibbs & Collette, 1959; Santana, 2001), por lo cual se sugiere que sus hábitos migratorios están relacionados con la temperatura superficial del agua (Zúñiga-Flores *et al.*, 2008), encontrándose comúnmente en aguas de temperatura igual o mayor a 24° C (intervalo: 21,4° C - 32° C) y en salinidades iguales o mayores que 33‰ (intervalo: 18,7- 37,8‰) (Oxenford, 1999). Su tamaño puede llegar hasta los dos metros de longitud caudal y un peso de 30 kg a los tres años de edad (Madrid & Beltrán-Pimienta, 2001; Díaz-Jaimes *et al.*, 2006).

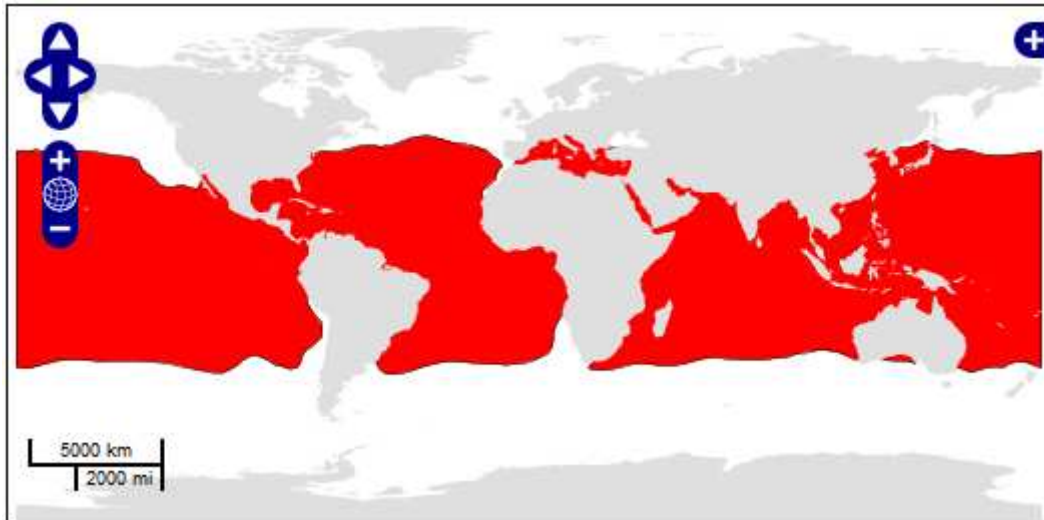


Fig. 2. Mapa de distribución de la especie *C. hippurus*. Fuente: FAO Fisheries and Aquaculture Department, <http://www.fao.org/fishery/species/3130/en>

Constituyen un recurso estacional de valor para pesquerías comerciales de pequeña escala y para la pesca recreativa, la cual explota a la especie aprovechando su hábito agregado bajo objetos flotantes ya que en ocasiones siguen los barcos. Este comportamiento es común en muchas especies, principalmente en fase juvenil. Al igual que otros peces pelágicos de talla media, el Dorado muestra una rápida expansión de las poblaciones, ocupa zonas apropiadas para la pesca y soporta altas presiones de la misma.

Los reportes de abundancia estacional del Dorado sugieren que es una especie altamente migratoria. Exhiben altas tasas de crecimiento, madurez temprana, y desove durante largos períodos, un corto período de vida y dieta variada (Oxenford, 1999).

Palko y colaboradores (1982) sugieren que las migraciones y movimientos del Dorado parecen estar afectados por el movimiento de objetos de deriva. Beardsley (1967) propuso que el Dorado migraba hacia el norte durante primavera y verano, resaltando la posibilidad de que la especie realice largas migraciones latitudinales de más de 400 km, valor similar al presentado por Kingsford & Defries (1999) en donde, mediante ensayos de captura y recaptura observaron migraciones de hasta 440 km en 120 días, y velocidades de más de 20km/día; aunque cabe recalcar que el mayor porcentaje de las recapturas se realizó en el punto donde se habían liberado los individuos, incluso después de 360 días de su marcaje. Gibbs & Collette (1967) sugirieron que la abundancia estacional del Dorado está relacionada con una migración pre-desove, principalmente de hembras.

En un estudio realizado en las costas Hawaianas, se proponen dos posibles escenarios de migración. En el primero, individuos entran a las costas y comienzan sus actividades reproductivas lo que hacen que pierdan peso; luego en verano, retornan al Océano abierto, tal vez escapando de unos de sus principales depredadores, el marlín azul *Macaira nigricans*, y en donde permanecen durante un período no reproductivo. En el segundo escenario, en verano los juveniles migran hacia el norte unos 1100 km hasta el límite de convergencia subtropical donde las aguas son bastante productivas; para luego migrar hacia el sur hacia el archipiélago Hawaiano para reproducirse cerca a la costa (Uchiyama & Boggs, 2006).

Se sabe que existe una gran influencia en las poblaciones de Dorado cuando se presenta el evento climático El Niño, provocando en algunos casos desplazamiento de su distribución alejados de la costa del este del Pacífico, originando una mayor disponibilidad a las flotas pesqueras de otras zonas (Peralta, 2006).

4.1.3 Ecología trófica

Los dorados son depredadores cambiantes que presentan un amplio rango de presas, las cuales incluyen peces e invertebrados, además existen algunos reportes de canibalismo (Moteki *et al.* 2001). Presenta una migración diurna hacia la superficie, por lo cual se sugiere que el Dorado forrajea oportunísticamente más que selectivamente, estrategia común en especies pelágicas tropicales. Las variaciones en la dieta pueden estar asociadas al tamaño del predador, al sexo, y al período del año (Oxenford, 1999).

Es una especie voraz, con hábitos alimentarios ligados al ambiente pelágico y un espectro trófico amplio, principalmente carnívora (Aguilar-Palomino *et al.*, 1998; Amezcua, 2007) y cuya dieta es cambiante durante el desarrollo temprano, en estadios larvarios la dieta consta principalmente de copépodos, huevos de invertebrados y peces (Kojima, 1966; Schekter *et al.*, 2002), los peces en estado juvenil (>18 cm FL) se alimentan mayormente de peces pelágicos juveniles. Tienen mayor actividad de alimentación durante la mañana (Sakamoto & Taniguchi, 1993)

Los juveniles del Dorado son presa de varias especies oceánicas de peces. Sus predadores incluyen el gran atún (*Thunnus alalunga* y *T. albacares*), tiburones, la aguja azul (*Makaira nigricans*), peces vela (*Istiophorus platypterus*) y peces espada (*Xiphias gladius*) (Oxenford, 1999). Adicionalmente, existen reportes que explican como adultos del Dorado ($\geq 1\text{m}$) son

aparentemente presa del delfín hocico estrecho o dientes rugosos (*Steno bredanensis*) en el Pacífico este (Pitman & Stinchcomb, 2002).

4.1.4 Ciclo de vida

Los dorados son heterosexuales, cuya madurez sexual se presenta entre los 4 y 5 meses de edad. En general existe un consenso de que las hembras desovan durante todo el año, aunque presenta picos de desove en diferentes épocas dependiendo de la región geográfica. El desarrollo embrionario es rápido, ya que se ha visto que 40 horas después de la fertilización ya se ha desarrollado una larva de vida libre de 3.9mm. Igualmente, el desarrollo larval es veloz, a los 15 días son organismos de 15mm con aletas formadas, ojos y boca desarrollados, los cuales ya son considerados como juveniles (Sánchez, 2008).

Aunque existen diferencias de las tasas de crecimiento entre algunas regiones, en general se sabe que el dorado crece bastante rápido (1.43 a 4.71 mm/día) y presenta una longevidad promedio de menos de dos años (Oxenford, 1999). En aguas japonesas, el dorado alcanza una talla 38 cm LF en el primer año, 68 cm LF en el segundo año, 90 cm LF en el tercer año, 108 cm LF para el cuarto año y 122 cm LF para el quinto año (Sakamoto & Kojima, 1999). Adicionalmente, de 36 individuos criados en acuario, 11 sobrevivieron seis meses después, tiempo en el cual llegaron a crecer hasta 100 cm de longitud total, lo que se traduce en un crecimiento aproximada de 0.5 cm/día (Soichi, 1978).

Por las características anteriormente descritas, como desarrollo larvario veloz y tiempo de vida corto se puede creer que la dispersión de individuos, tanto por corrientes durante el estadio larvario, como por desplazamiento de adultos es limitada.

4.1.5 Características reproductivas

Coryphaena hippurus presenta un dimorfismo sexual claro, la cabeza del macho exhibe una cresta bien desarrollada mientras que la cabeza de la hembra es casi redonda (Lasso & Zapata, 1999). Con respecto a características sexuales se ha observado que las hembras superan en número a los machos (Wu *et al.*, 2001), pero la proporción parece cambiar con el tamaño del pez y con la estación. Esta tendencia que ha sido estudiada a partir de datos de captura parecer ser el resultado de un sesgo ocasionado por la selección de tallas y del área

operativa de las embarcaciones, debido a que existen diferencias en el comportamiento entre sexos, además que los machos generalmente se encuentran en regiones oceánicas donde la flota opera en menor grado (Oxenford, 1999), más que una diferencia real en las proporciones y/o por tasas de mortalidad diferenciales en larvas y juveniles machos y hembras. De la misma forma, se ha propuesto que es una tendencia causada por el comportamiento reproductivo o diferencias en la proporción sexual entre clases de edad (Arocha *et al.*, 1999; Oxenford, 1999). Oxenford (1985) sugiere que machos de pequeña talla y hembras de todas las tallas pasan mayor tiempo asociadas a objetos flotantes que los machos de tallas grandes, los cuales pasan más tiempo en aguas abiertas. Por lo cual capturas de peces de talla pequeña muestran una proporción 1:1, las capturas de peces de talla grande van a estar sesgadas por el comportamiento diferencial de los sexos, lo cual es corroborado con datos de proporciones sexuales obtenidas en un estudio realizado en las costas del Océano pacífico en Panamá y Colombia (Oxenford, 1999; Lasso & Zapata, 1999).

Existe un consenso general de que los dorados alcanzan su madurez sexual en el primer año de vida, y las hembras alcanzan la madurez a una talla menor pero edad similar que los machos. En general, ambos sexos alcanzan la madurez a una talla mínima estimada en 51 cm (Wu *et al.*, 2001). Cerca de los cinco meses y medio el 99% de los peces están en su estado de madurez (Oxenford, 1999). Los machos presentan una tamaño y peso promedio mayor que las hembras, pero parece haber poca diferencia en la relación longitud/peso entre las distintas regiones del Atlántico centro-occidental (Oxenford, 1999).

Existen en general dos o tres clases de tamaño de huevos en los ovarios, y una o dos clases de tamaño más homogéneas de huevos maduros. La estimación del tamaño promedio de maduración parece variar levemente con la locación y/o el autor, desde 0,97 a 1,10 mm de diámetro. La fecundidad estimada es de 58,000 a 2,3 millones de huevos y está fuertemente influenciado por el tamaño del pez (Oxenford, 1999; Wu *et al.*, 2001).

Nel (1995) observó que un pez adulto puede desovar naturalmente una vez cada 48 horas, durante todo el año, sin la necesidad de inyección de hormonas. Además, cada hembra puede producir más de 250,000 huevos en cada ocasión de desove.

Algunos estudios en cautiverio (Rose & Hassler, 1968; Beardsley, 1967) sugieren un período de vida máximo de de 4 años, sin embargo entre el 96% y el 98% de los individuos mueren dentro de los dos primeros años de vida.

La estimación de la tasa de mortalidad ha sido realizada por varios autores (Bentivoglio, 1988; Oxenford, 1985; Murray, 1985), mediante diferentes métodos pero en general se obtienen intervalos de tasas de mortalidad total anual entre 97,1% y 99,98% (Oxenford, 1999).

Para especies pelágicas con rápido crecimiento, de corto tiempo de vida y que se reproducen pocas veces en su vida, como el dorado, se ha reportado que no existe una mejor calidad y vitalidad de las larvas con respecto al incremento de la edad de los individuos (Birkeland & Dayton, 2005).

4.2 *El Dorado como recurso pesquero en el Océano Pacífico*

Este es un recurso muy atractivo en pesca deportiva, aunque también es ampliamente explotado comercialmente por su carne, altamente valorada para consumo humano. Las capturas anuales varían geográficamente, partiendo desde 9,900 toneladas métricas (mt) en Japón a 35 mt en el Mediterráneo. En Latino América, son explotados principalmente por pesca artesanal y puede representar una fracción substancial de las capturas, alcanzando las 500 mt en el Pacífico en las costas de Panamá y Colombia (Mahon, 1999).

El porcentaje de poblaciones explotadas en sus límites máximos sostenibles o cerca de ellos varía mucho según las áreas. Las principales áreas de pesca con mayores proporciones (69-77%) de poblaciones plenamente explotadas son las del Atlántico centro-oeste, el Atlántico centro-este, el Atlántico noroeste, el Océano Índico oeste y el Pacífico noroeste, mientras que las áreas con mayores proporciones (46-60%) de poblaciones sobreexplotadas, agotada y en recuperación son las del Atlántico sudeste, Pacífico sudeste, Atlántico nordeste y las de altamar (FAO, 2007).

En la costa occidental del continente americano ha sido explotado principalmente en Ecuador con capturas de 11,600 ton en 1990 y un valor estimado de US \$29 millones en el mercado norteamericano. Presenta un alto valor comercial que ha permitido sostener y utilizar el desarrollo de su pesquería hasta constituirse como la principal fuente de ingresos (Peralta, 2006). En Perú, el dorado es una de las principales especies capturada por la flota artesanal y cuya captura se ha incrementado en la última década llegando casi a las 25,000 ton (Estrella & Swartzman, 2008).

Esta especie es considerada un recurso importante en las pesquerías de las costas del Pacífico Colombiano, con capturas que representan un total de 1,322.3 toneladas entre 1994 y 1996 con picos en los meses de diciembre-abril, ocupando el segundo lugar en importancia de recursos del Pacífico de Colombia después del pargo (Lutjanidae) y sobre los tiburones (Carcharhinidae) (Lasso & Zapata, 1999).

En el Pacífico Oriental el Dorado es atrapado por la pesca incidental realizada por pesquerías de redes-cerco de atún. En donde se han identificado dos áreas de alta captura, una en aguas mexicanas (15° - 25°N) que representa el 15% de la captura total, y otra en aguas de mar

abierto de la parte central del Pacífico Oriental (0° - 10° N) que representa casi el 60% del total de las capturas, siendo los objetos flotantes el principal método de captura incidental del Dorado (Martínez-Rincón *et al.* 2008).

En México, pese que el recurso se encuentra reservado para la pesca por parte de las flotas deportivas (Diario Oficial de la Federación, 1995), esta especie es una parte importante de la captura incidental de flotas artesanales que operan a lo largo de la costa Pacífica mexicana (Martínez-Rincón *et al.*, 2008). En las costas de Oaxaca, este recurso se captura durante todo el año, siendo de marzo a noviembre cuando se incrementan las capturas. Con un intervalo de tallas de 36.5 a 162 cm LF (Alejo-Plata *et al.* 2004)

Las capturas incidentales del Dorado han presentado máximos picos alrededor de la Península de Baja California, en donde ocurren procesos de surgencias estacionales durante verano e invierno, los cuales propician la abundancia del recurso alimenticio de peces pelágicos. El área de mayor captura es entre los 5° Y 15° N de la costa Mexicana, que coincide con el punto de divergencia tropical entre la Contracorriente Ecuatorial y la Corriente Ecuatorial del Norte, donde ocurre un flujo vertical de nutrientes dirigido a la zona eufótica, incrementando la productividad biológica (Martínez-Rincón, 2009).

En Hawái, tanto en flotas comerciales como artesanales, el Dorado se encuentra en segundo lugar, después de los atunes y el pez vela, en captura incidental (Uchiyama & Boggs, 2006). Los desembarcos de Dorado desde 1987 a 1996 se encontraron entre 150 y 600 toneladas métricas por año. Sin embargo, Hawái importa el 75-90% del Dorado desde aguas ricas en nutrientes como Ecuador, Costa Rica y Taiwán (Kraul, 1999)

En Japón el Dorado es objetivo de importantes pesquerías. Entre los años de 1993 y 1995 el promedio de captura anual del Dorado fue de 9,962 toneladas métricas, dos tercios de éstas capturas son de las regiones del sur de Japón y el este del mar Chino. Y aunque el Dorado se captura a lo largo de todo el año, cerca del 70% de la captura es desembarcada entre los meses de abril a junio (Sakamoto & Kojima, 1999).

En aguas australianas, la mayoría de Dorado es capturado por flotas japonesas y parte sustancial es objetivo de la pesca recreativa. El estimado de captura total por parte de flotas extranjeras se encuentra entre 3.7 a 66 toneladas en la costa Este, y 0.05 a 0.99 toneladas en la costa Oeste, con tallas promedio de 60 a 140 cm. Las flotas domésticas capturan un total de

23,102 kg y 3,930 kg en la costa Este y Oeste, respectivamente. En algunas áreas la pesca recreativa excede los valores de la comercial (Kingsford & Defries, 1999).

Los mismos autores comentan que la pesca del dorado en Nueva Zelanda se realiza tanto por flotas domesticas como foráneas y el porcentaje de captura incidental es bajo.

La pesca comercial se ha identificado en repetidas ocasiones como el principal factor causante del declines de los *stocks* de peces. Recientemente, la pesca recreacional también ha sido considerada como potenciador de los declines pesqueros, es decir, a pesar de la noción que se tiene de la pesca recreativa en donde solo en algunas ocasiones los peces son consumidos y por lo cual no está afectando a las poblaciones y por lo tanto al reservo poblacional, es sabido que ambos tipos de pesca tiene un efecto negativo sobre las poblaciones. La actividad pesquera de cualquier tipo, sea comercial o recreativa, tiene el potencial de afectar negativamente a los peces, la pesca, y los hábitats acuáticos (Cooke & Cowx, 2006).

4.3 *Características oceanográficas del Océano Pacífico*

4.3.1 Circulación

La circulación del Océano Pacífico a gran escala consiste de dos grandes giros anticiclónicos que se contraen hacia los polos en grandes profundidades (Reid, 1997). Dos giros ciclónicos en latitudes altas, dos flujos hacia el oeste entre los 10° y 15° norte y sur que se encuentran desde la superficie hasta profundidades abisales, y un flujo hacia el este que ocurre en el norte del Ecuador en la superficie y cerca de los 500 m, pero recae sobre el ecuador a cualquier otra profundidad.

Este patrón es fuertemente simétrico con respecto al ecuador excepto por el flujo con dirección al norte que cruza el ecuador en el oeste y el flujo hacia el sur en el este.

Debido a que en el Pacífico Norte no se originan aguas de densidades mayores que $26.8 \sigma_0$, las aguas más densas del Pacífico Norte están dominadas por la entrada de aguas del Pacífico Sur. La salinidad y el oxígeno son mayores en las aguas profundas del Pacífico Sur y los nutrientes son menores. Estas características definen vías reconocibles a medida que se mueven al norte a través del ecuador en el este y circula dentro del Pacífico Norte.

Las principales características de la circulación superficial son los dos giros anticiclónicos con eje cerca de los 20°N y 20°S, los giros ciclónicos a los 50°N y 65°S, y el flujo hacia el este de costa a costa sobre los 5°N. Además existe un flujo débil hacia el este cerca de los 5°S y 175°W y un flujo hacia el oeste en el sur de Australia (Fig. 3).

4.3.2 Corrientes

En el Pacífico Norte, las corrientes circulan en el sentido de las manecillas del reloj (anticiclónico) y en el Pacífico Sur, en sentido contrario a las manecillas del reloj (anticiclónico). Estos dos conjuntos de corrientes están separados por la Contracorriente Ecuatorial.

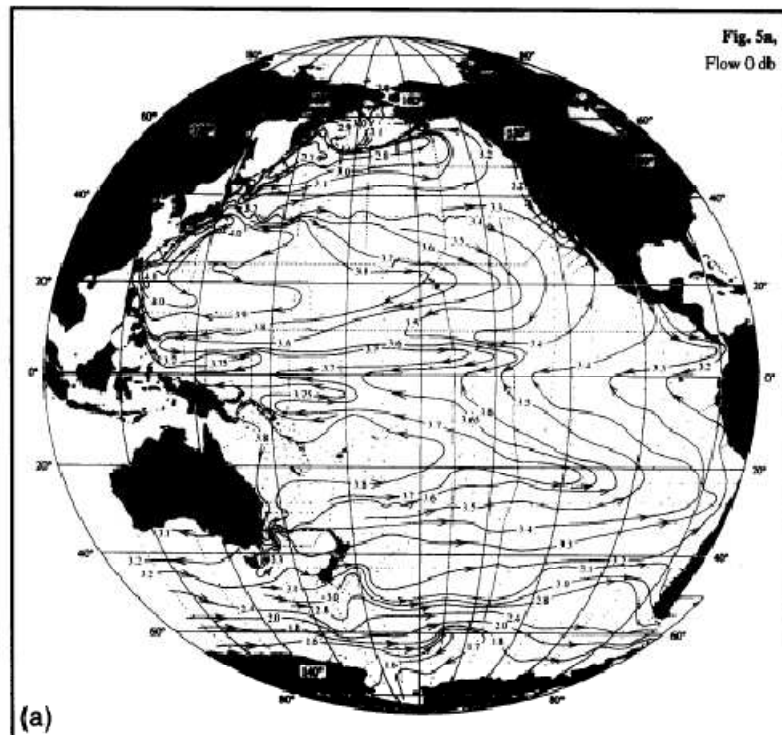


Fig. 3. Circulación superficial en el Océano Pacífico. Fuente: Reid (1997)

La circulación en el norte está formada por la corriente cálida de Kuro Shivo (CKS), situada frente a la costa del Japón, y por su continuación Kuro Shivo Drift; de ésta última parte la corriente fría de California (CC), que gira al sur frente a la costa de Norte América; la cálida Corriente Ecuatorial del Norte (CEN), es una continuación de la CC. De ésta se separa un ramal frente a la costa oriental de las Islas Filipinas, que originan la Contra Corriente ecuatorial (CCE) (Fig. 4)

La circulación en el hemisferio sur está formada por la deriva de los alisios, corriente fría que desemboca frente a las costas de América del Sur, en la Corriente de Perú (CP), también llamada Corriente de Humboldt, de aguas más heladas, que llega hasta la línea ecuatorial y desemboca, a su vez, en la cálida Corriente Ecuatorial del Sur (CES) (Fig. 4).

Frente a la costa oriental de Australia, la CES da finalmente un giro hacia el sur y se convierte en la Corriente Australiana Oriental (CAO), la cual choca al sur de los 40° de latitud con la deriva de los alisios.

Además, el Pacífico participa también en las dos frías circulaciones polares; en la parte norte a través de la Corriente de Oya- Shio (COS), de aguas heladas, y en la parte sur a través de la corriente del Polo Sur (CPS) (Fig. 4).

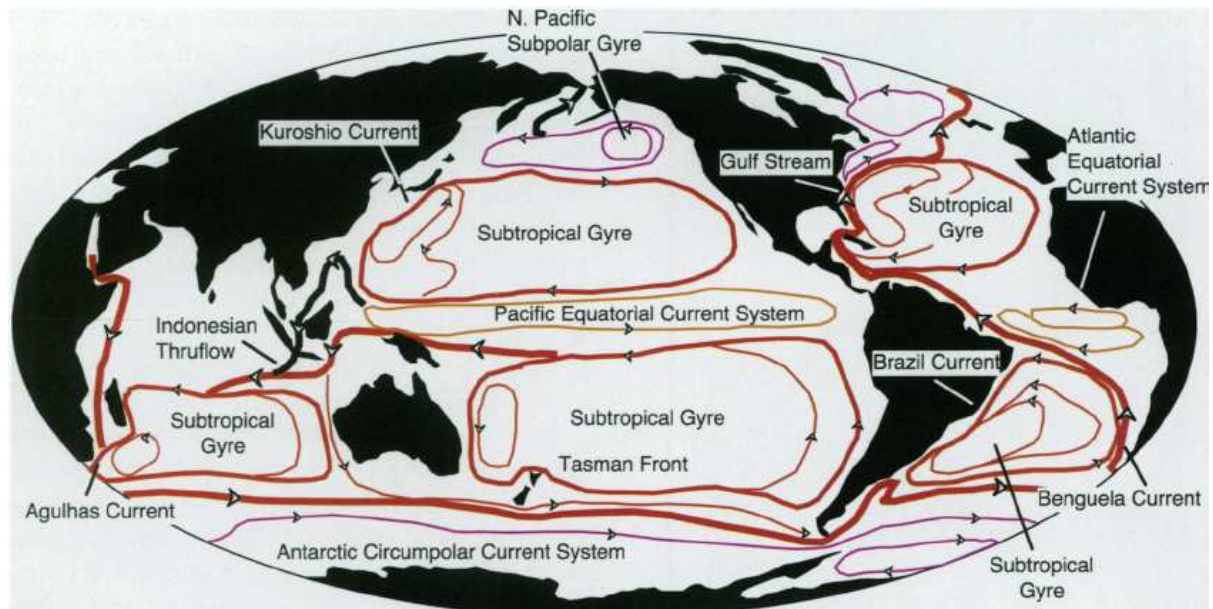


Fig. 4. Sistema de corrientes. Fuente: Norris (2000)

4.3.3 Surgencias y productividad primaria

Las corrientes oceánicas y los procesos relacionados son de gran relevancia en la vida marina; el más importante de ellos es el acrecentamiento de la producción primaria. Este aumento es frecuentemente transferido a través de las redes tróficas, lo que se traduce en impacto a la comunidad marina. Por otra parte, la intensidad de las corrientes y otras fuerzas inducen la formación de “*eddies*”, estos son anillos que generan agregaciones biológicas a gran escala; dependiendo de la dirección de rotación pueden causar, o un levantamiento de nutrientes que ocasiona un aumento de la producción primaria o el proceso contrario, donde hay una reducción local de la producción primaria. Las mareas también pueden ocasionar un aumento en la producción primaria, a través de la mezcla de la columna de agua en zonas poco profundas o por su interacción con islas (Merino & Monreal, 2004).

California y Perú (Fig. 5) son las regiones que presentan las surgencias con los valores más altos en concentración de nutrimentos comparada con los dos sistemas de surgencias de África debido a que están localizadas en el Pacífico, en donde la circulación termohalina ha

permitido el incremento de la concentración de nutrientes en aguas profundas en relación al Atlántico. Esto ha permitido que el sistema de surgencias de la costa Peruana mantenga la más grande pesquería mundial. Adicionalmente, tanto en el Pacífico como en el Atlántico se crean divergencias por el viento y las corrientes ecuatoriales en extensas áreas cerca al ecuador ocasionando la surgencia conocida como Regiones de Surgencia Ecuatoriales (Lavín *et al.*, 2006; Merino & Monreal, 2004).

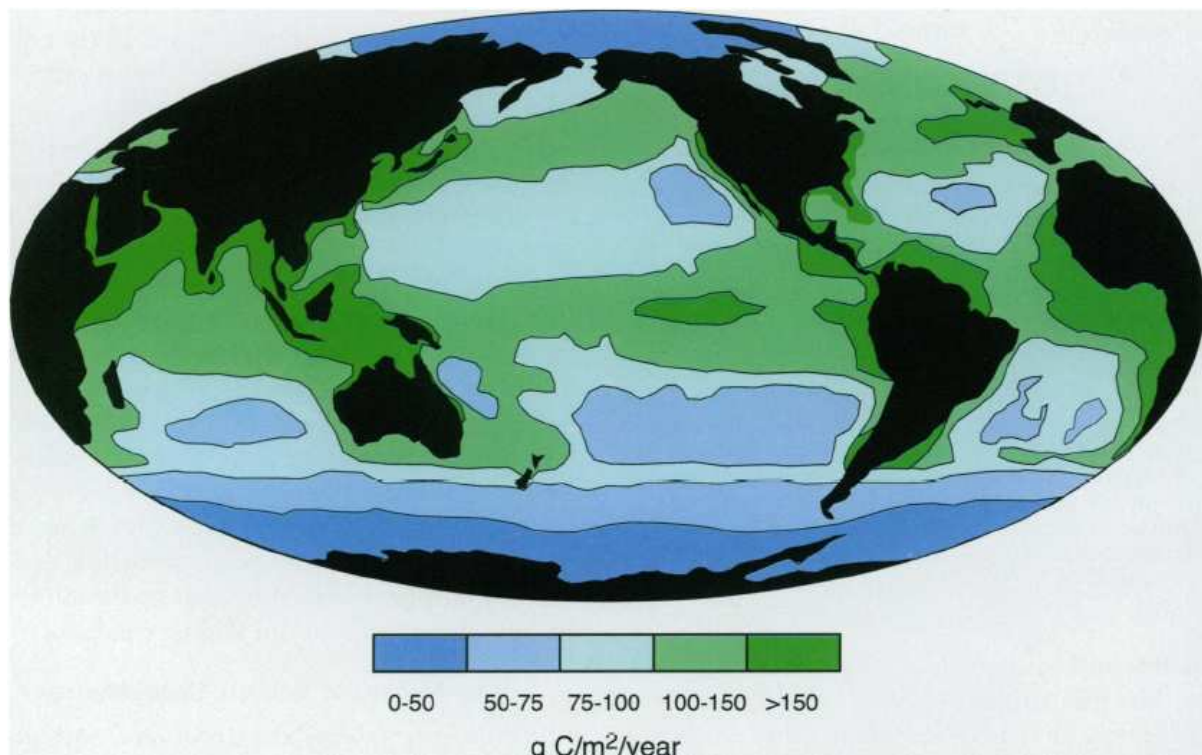


Fig. 5. Estimación de la producción anual de carbono orgánico en aguas superficiales en el mundo basado en imágenes satelitales. Fuente: Norris (2000).

Una de las características hidrográficas más relevantes, es el hecho que en Pacífico este existe una capa de mínimo oxígeno pronunciada, con la concentración más baja de oxígeno comparada con cualquier otra área en el mundo y la cual esta tan solo a unos diez metros de la superficie (Lavín *et al.* 2006).

Anudado a lo anterior, es de relevancia conocer los procesos oceanográficos y patrones presentes en las áreas que habita el recurso, ya que las condiciones ambientales y biológicas determinan la distribución del dorado e influyen en su vulnerabilidad a la pesca. En el apartado 4.1.2 se mencionó como el dorado depende principalmente del factor temperatura.

4.4 *La genética de poblaciones como herramienta de conservación del recurso*

Los principales objetivos en programas de conservación son el preservar el potencial reproductivo y adaptativo de recurso; una de las maneras de hacerlo es mediante el mantenimiento de niveles adecuados de variabilidad genética y evitar la aparición de procesos de endogamia en las poblaciones. Lo anterior se explica porque la variación genética es prerequisite para que las poblaciones puedan enfrentar cambios ambientales futuros y asegurar una respuesta selectiva a largo-plazo, tanto por presiones naturales como artificiales (Frankham *et al.* 2010).

Una generalización emergente de los análisis moleculares es que los peces marinos son frecuentemente caracterizados por una alta variabilidad genética (DeWoody & Avise, 2000) y estructuración genética pobre de las poblaciones, aunque existan fuertes discrepancias respecto a tasas de divergencia resaltando su separación de millones de años. La similitud de frecuencias alélicas entre poblaciones puede ser atribuida a mezcla de huevos, larvas y adultos en escalas de tiempo y espacio amplias acompañado de ausencias de barreras físicas o geográficas al movimiento entre cuencas oceánicas, además de una posible mezcla en escalas de tiempo de décadas y siglos, dadas por cambios en clima u oceanográficos. Estos resultados han llevado a catalogar estas especies como especies resistentes a la extinción y en consecuencia pocas especies de peces marinos son consideradas en programas de conservación; sin embargo, esta falta de estructura repercute en una pérdida de variabilidad y las poblaciones pueden ser vulnerables (Grant & Bowen, 1998).

La genética de la conservación persigue como uno de sus objetivos centrales, evitar las rápidas caídas en la diversidad genética debido a la pesca y la pérdida de alelos de baja frecuencia. Esta debe ser la principal preocupación: la salud genética de las especies y el mantenimiento del potencial evolutivo (Grant & Bowen, 1998).

El ambiente pelágico está estructurado tanto geográficamente como en profundidad lo que repercute de forma importante en la evolución de clados de mar-abierto. Existen diferentes masas de agua superficial determinada por su salinidad, temperatura, presión, atenuación de la luz, nutrientes, niveles de oxígeno disuelto, etc. que a su vez pueden tener características particulares dadas por la escala latitudinal/longitudinal así como por variaciones estacionales, tasas de producción de clorofila y grado de estratificación. Todas las anteriores características

juegan un papel importante en la distribución de las especies y proveen razones para una subdivisión ecológica y genética de la especie (Norris, 2000).

Peralta (2006), resalta la importancia del conocimiento de los aspectos poblacionales del Dorado en relación a las actuales tendencias en el mercado internacional en cuanto a exportaciones, en términos de la “eco certificación” de los productos pesqueros para el consumo humano tales como el dorado.

Algunos antecedentes de estudios genéticos, que se muestran en párrafos posteriores son, sin duda alguna un avance en el conocimiento del estado de la especie y de las poblaciones en diferentes puntos del globo y al mismo tiempo sirven de plataforma para trabajos que incorporen nuevas metodologías que permitan analizar y comparar los resultados obtenidos mediante diferentes técnicas analíticas.

Debido a la profunda similitud que existe entre las especies del género *Coryphaena* (*C. equiselis* y *C. hippurus*) y difícil distinción con solo parámetros morfológicos, sobre todo en estadios juveniles, Rocha-Olivares & Chávez-Gonzalez (2008) diseñaron un rápido y confiable método para la identificación de especies del genero mediante amplificación por PCR de fragmentos de ADN diagnósticos del gen mitocondrial citocromo *b*. Metodología que también es útil para la cuantificación de productos de la especie que llegan a los mercados, dado que su fuente en algunos países es ilegal.

Con respecto a estudios poblacionales a escala regionales. En el análisis de poblaciones del oeste del Mar Mediterráneo y del este del Océano Atlántico Pla & Pujolar (1999) mediante la amplificación de ocho *loci* polimórficos de proteínas en 735 individuos, no encontraron diferencias ($F_{ST}= 0.010$), pero sí valores de heterocigosidad moderadamente altos (0.035-0.041), los cuales son atribuidos al comportamiento altamente migratorio, que predice un flujo génico significativo en donde poblaciones geográficamente separadas pueden estar siendo homogeneizadas. Sin embargo, en un estudio realizado en el Mediterráneo se encontró evidencia de dos subpoblaciones diferenciadas utilizando electroforesis de aloenzimas (Cimmaruta *et al.*, 1998).

Oxenford & Hunte (1986) evaluaron mediante isoenzimas el locus *Idh-2* (isocitrato deshidrogenasa), en muestras de dorado procedentes de Barbados y Miami, con el cual observaron siete fenotipos expresados en tejido cardiaco cuyas frecuencias alélicas resultaron

en diferencias significativas y niveles bajos de flujo génico entre dos grupos (*stocks*) con diferente circuito de migración.

Rocha-Olivares y colaboradores (2006), evaluaron los niveles de variabilidad genética y conectividad entre poblaciones del dorado a dos escalas espaciales, una regional (Pacífico Oriental) y una oceánica (entre Pacífico Oriental y Central) utilizando RFLPs del gen mitocondrial NADH1, encontrando en general una ausencia de patrones filogeográficos, con filogramas poco diferenciados.

Durante el 2005 el CIBNOR-La Paz, en Baja California Sur México, llevo a cabo un proyecto de amplia envergadura, con muestreos dentro del Golfo de California y aguas aledañas, que abordó entre otros aspectos genéticos. Los resultados mostraron la existencia de una estructura poblacional espacial, con diferencias genéticas significativas entre las poblaciones de las costas oriental y occidental del Golfo de California. Las frecuencias alélicas de cinco *loci* microsatelitales fueron características de cada región y el flujo génico mayor entre las poblaciones de cada costa del Golfo. No obstante se identifica un patrón migratorio entre ambas costas a la altura de Guaymas-Santa Rosalía durante los meses de julio-septiembre, así como segregación de tallas (CIBNOR, 2007). Posteriormente en el 2006 se realizó un proyecto con características similares en la misma región en donde mediante la amplificación de cinco *loci* microsatélites se obtuvieron altos valores de variabilidad genética, expresada en valores promedio de heterocigosidad observada, H_o (0.8-0.93), heterocigosidad esperada, H_e (0.8-0.86). Adicionalmente, se encontraron pequeños valores significativos de F_{ST} , sugiriendo una leve heterogeneidad en escala temporal y espacial. Sin embargo, las pruebas bayesianas de asignación no detectaron grupos genéticamente diferentes; concluyendo que en el Golfo de California y parte de la costa Mexicana hay una sola población compleja, sin una clara estructuración poblacional del Dorado (CIBNOR, 2007; Tripp-Valdez, 2009; Tripp-Valdez *et al.*, 2010).

Díaz-Jaimes *et al* (2006), evaluaron la presencia de estructura genética en poblaciones distantes del dorado y en series de tiempo del Pacífico central oriental, mediante la variación genética de las secuencias del segmento NADH subunidad 1, encontrando una homogeneidad espacial y temporal, sugiriendo un elevado flujo génico, que debido a la colonización durante períodos interglaciares-glaciares resulta en patrones de expansión-contracción demográfica que posiblemente encubren las huellas de aislamiento genético.

Cruz-Bastida (2009) desarrolló un estudio de la especie en el Atlántico, con muestras procedentes del Caribe, el Golfo de México, el Mediterráneo y Senegal, en donde por medio de marcadores mitocondriales, el citocromo *b*; encontró diferencias significativas del Mediterráneo con respecto a las demás poblaciones, las cuales fueron atribuidas a eventos geológico-históricos.

Anudado a lo anterior, Sánchez-Iquierdo (2009) evaluó la estructura genética mediante el análisis del mismo fragmento mitocondrial de individuos provenientes del Pacífico Mexicano Oriental, de Perú y Ecuador. En donde obtuvo que no existe una estructura genética significativa en las poblaciones ($F_{ST} = -0.05$, $p = 0.63$).

En términos de cuencas oceánicas, al igual que algunas especies de atún, el dorado exhibe poca o escasa divergencia genética dentro y entre los Océanos. Un análisis realizado en el dorado con 36 *loci* de aloenzimas de 15 individuos del Atlántico y 10 del Pacífico revelaron que no hay una diferenciación genética significativa (Rosenblatt & Waples, 1986). De manera similar, un análisis de secuencias de 258 pb del gen mitocondrial citocromo *b* en 55 individuos de *C. hippurus* de 11 localidades dentro de los océanos Atlántico y Pacífico geográficamente distantes mostraron que no hay evidencia significativa que refleje una estructura poblacional intra o inter poblacional (Avice & Hamrick, 1996).

Por otro lado, Díaz- Jaimes y colaboradores (2010) desarrollaron una investigación con muestras procedentes de varios puntos del globo, cubriendo los Océanos y mares donde se distribuye la especie y encontraron, mediante el análisis de la secuencia parcial del gen mitocondrial NADH subunidad 1 de una clara diferenciación de los haplotipos provenientes del Mediterráneo. Sin embargo, no fue posible observar una diferenciación entre las poblaciones del Indo-Pacífico y el Atlántico, lo cual postula, puede estar relacionado con un evento de dispersión reciente en las cuencas.

Adicionalmente, en algunos estudios reportados para especies pelágicas de amplia distribución como el dorado, entre los que se encuentran el pez vela *Istiophorus platypterus* y el marlín rayado *Tetrapturus audax* (Graves & McDowell, 2003) se han encontrado mediante el análisis de algunos marcadores moleculares que incluyen secuencias de ADN mitocondrial y microsátélites y aloenzimas, se ha encontrado estructura genética al interior de la cuenca oceánica del pacífico; lo que puede ser explicado considerando tanto la historia de vida como los tamaños relativos poblacionales, así como por procesos contemporáneos e históricos que pudo haber sufrido la especie.

Debido a las características del DNA mitocondrial como su herencia materna, su uso resulta adecuado para la inferencia de eventos históricos de las poblaciones. No obstante, dada la necesidad de identificar procesos contemporáneos que definan la existencia de estructura genética en las poblaciones o en su caso la existencia de flujo génico, es conveniente el uso de marcadores nucleares que provean información adicional para la detección de señales de divergencia en caso de que las diferencias estacionales que presenta la especie en la cuenca del Pacífico se deba a una estructura poblacional de la misma.

Los microsatélites dado que son marcadores moleculares altamente variables tienen algunas ventajas sobre otros, con los cuales es posible inferir genotipos individuales, y los individuos pueden ser muestreados con técnicas poco invasivas. La visualización y análisis de fragmentos microsatelitales amplificados tras electroforesis puede ser en sí mismo informativo, cuando a partir de distintos genotipos se obtiene patrones de bandas diferentes. La amplificación de estos *loci* mediante PCR con cebadores o *primers* flanqueantes a la repetición genera fragmentos cuyo tamaño depende del número de repeticiones de ésta secuencia, caracterizándose fácil y sensiblemente los alelos de estos *loci* en un número considerable de individuos. Tanto la simpleza tecnológica como la cantidad y calidad de la información que se genera han convertido el análisis de microsatélites en una de las técnicas de mayor resolución para la identificación de individuos, los análisis de parentesco y la genética de poblaciones (Barbudo, 1999).

Este tipo de información sirve en múltiples objetivos, entre ellos aplicaciones en biología de la conservación, ya que ayuda al entendimiento de los cambios genéticos que afectan a la supervivencia de especies amenazadas y además, proporciona información genética utilizable para la mejor gestión en las especies amenazadas (Barbudo, 1999).

V. Hipótesis

El dorado es una especie pelágica que no obstante de ser migratoria, presenta algunas características biológicas tales como movilidad restringida a distancias de hasta 440km, fidelidad a sitios de agregación, y tiempos larvarios y generacionales cortos, que le confieren una capacidad de dispersión limitada. Otros estudios han mostrado que la abundancia estacional del recurso está asociada a la temperatura superficial del agua, lo que sugiere que

los movimientos de sus poblaciones se dan principalmente en sentido latitudinal dentro del margen continental.

De acuerdo a las anteriores premisas, se espera que las poblaciones del dorado en la cuenca del Pacífico presenten algún grado de estructura genética relacionada con la distancia de separación entre las regiones del Pacífico occidental, central y oriental. De la misma forma, es factible la posibilidad de una estructura genética relacionada con la escala latitudinal entre poblaciones al norte y sur del Ecuador debidas a las diferencias de temperatura que caracteriza a las estaciones cálidas y frías en ambos hemisferios.

VI. Objetivos

6.1 Objetivo General

Caracterizar la diversidad genética de las poblaciones de dorado en la cuenca oceánica del Pacífico mediante el análisis de marcadores microsatelitales, con el fin de detectar la existencia de estructura genética que nos permita definir el número de unidades independientes de pesca para que sean consideradas para la delineación de estrategias de manejo y conservación por las pesquerías que explotan el recurso.

6.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar la variabilidad genética de *C. hippurus* en la cuenca oceánica del Pacífico.
- Obtener estimaciones de divergencia poblacional, que nos permitan inferir si existe estructura genética entre las regiones del Pacífico Occidental, Central y Oriental y/o entre las localidades colectadas al norte y sur del Ecuador.
- Con base en las inferencias a partir del análisis genético-poblacional, proponer unidades de pesca las cuales sean consideradas en estrategias de manejo y administración del recurso en las localidades estudiadas.

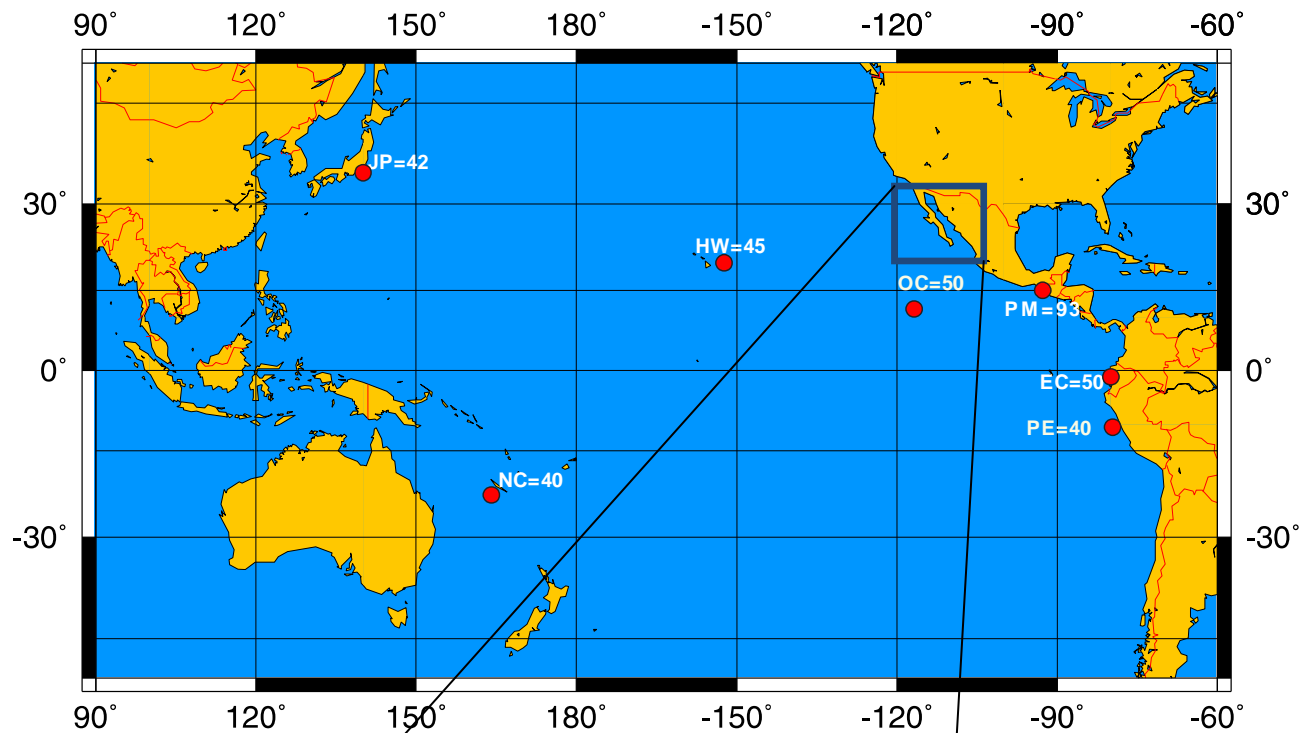
VII. Metas

- Extracción de ADN de buena calidad a partir de tejido muscular de muestras de dorado colectadas en localidades dentro de la cuenca oceánica del Pacífico.
- Estandarización de la técnica de PCR y posterior amplificación de los fragmentos de cada uno de los cinco *loci* microsatelitales.
- Preparación de mezclas múltiples con *primers* marcados con fluorocromos para su corrimiento y análisis.
- Visualización de los productos de reacción y genotipificación por determinación de alelos presentes en cada uno de los individuos.
- Análisis estadístico de datos que permitan obtener estimaciones de divergencia genética y diferenciación poblacional.
- Obtención de estimados poblacionales de tamaño efectivo y flujo génico.
- Identificación de unidades de manejo pesquero y planteamiento de alternativas de uso del recurso de acuerdo a los resultados obtenidos y a la presión que se genera actualmente sobre las poblaciones.

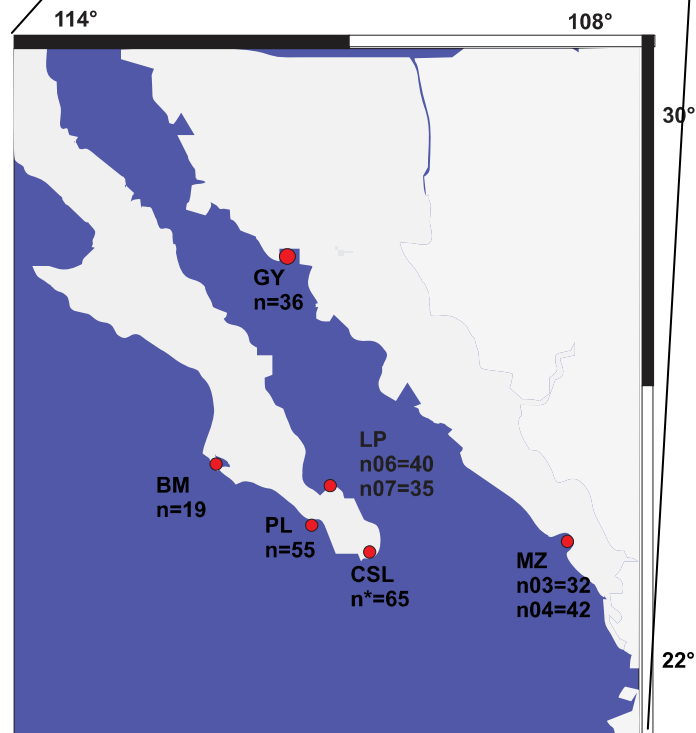
VIII. Metodología de Investigación

8.1 Área de Estudio

Las muestras fueron obtenidas en diferentes puntos de la cuenca del Océano Pacífico (Fig. 6). En aguas del Japón (JP), Nueva Caledonia (NC), Hawái (HW), región Oceánica ubicada dentro de la Zona Económica Exclusiva de México (10° 44' N, 131° 12' W) (OC), Perú (PE), Ecuador (EC) y México (Fig. 6a). Dentro de ésta última y con el fin de evaluar la homogeneidad genética en la región Pacífico Oriental, se realizaron colectas en varios puntos de muestreo detallados en la Fig. 6b e incluye los puntos de Cabo San Lucas, BCS (CSL); La Paz, BCS (LP); Bahía Magdalena, BCS (BM); Guaymas, Sonora (GY); Mazatlán, Sinaloa (MZ) y Puerto Madero, Chiapas (PM).



a)



b)

Fig. 6. a) Ubicación de los puntos de colecta en el Océano Pacífico. b) Acercamiento a la Península de California señalando los puntos de colecta ubicados en la costa Mexicana. n= tamaño muestral. *muestras de diferentes años: 2002, 2003 y 2006

8.2 *Colecta de Muestras*

Se colectaron muestras de tejido en cada localidad de muestreo, de especímenes obtenidos principalmente del desembarque de las capturas por parte de pesquerías comerciales y deportivas, éstas fueron preservadas en etanol al 70%, para su posterior procesamiento y análisis.

De la misma forma, las muestras se han colectado en colaboración con otros grupos de investigación, destacando el apoyo de Jean Dominique Durand del Institut de Recherche pour le Developpement; Daniel Saúl Ore del Centro de Genética y Biología Molecular de la Universidad de San Martín de Porras en Perú; la Dra. Sofía Ortega de CICIMAR, México; Dr. Felipe Galván de CICIMAR, México y el Dr. David Itano de la Universidad de Hawái. Los años de las colectas corresponden al período comprendido entre el año 2002 hasta el 2007.

8.3 *Extracción de ADN genómico*

El ADN genómico total fue aislado por el método propuesto por Laird *et al.*, (1991) que consiste en incubar un trozo de tejido en 500 μ L de buffer de Lisis (100mM Tris-HCl pH 8.5, 50 mM EDTA, 2% SDS y 20 mM NaCl) conteniendo 15 μ L de proteinasa K durante 3-4 hrs a 55°C y su posterior precipitación con isopropanol y limpieza con etanol y posterior re suspensión en 50-100 μ l de buffer TE.

8.4 *Primers y amplificación por PCR*

Los cinco *primers* fueron los diseñados por Elby *et al.* (2002) cuya secuencia fue proporcionada por el Dr. Jean Dominique Duran y a partir de la información de las secuencias de los clones publicada GeneBank (Tabla 1), fue determinado el rango de tamaño de cada *loci* para ubicarlo en el gel.

En primer lugar se realizó una estandarización del protocolo de amplificación partiendo de las temperaturas de alineamiento calculadas y de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), en un PX2 Thermal Cycler Thermo Electro Corporation® de 96 pozos. La reacción tiene un volumen final de 15µl que contienen de 10-100 ng de DNA, 1X de buffer de reacción (200mM Tris-HCl pH 8.4, 500mM KCl), de 1.5 a 3mM de MgCl₂, 0.8mM de mix de DNTP's, de 0,25 -1 pmol/µl de cada uno de los *primers* (-F y -R) y 0,025 U de TaqPlatinum® Polymerase. Las condiciones de los ciclos fueron: 95° C por cinco minutos seguido por 30 ciclos de 95° C durante 1 minuto, temperatura de alineamiento (diferente en cada locus, ver Tabla 1) por 1 minuto, y 72°C por un minuto, con una extensión final a 72° C por 10 minutos. Posteriormente se hizo una separación y visualización de los productos amplificados en geles desnaturalizantes de poliacrilamida al 6% con tinción de nitrato de plata. Una vez el protocolo se ha estandarizado para las muestras de cada una de las poblaciones se prosigue a la amplificación, visualización y genotipificación.

Tabla 1. *Primers* microsatelitales para *C. hippurus*.

<i>Locus</i>	#Acceso GeneBank	Motivo de repetición	Tamaño (pb)	Temperatura Alineamiento	<i>Primers</i>
Chy002	AY135025	(CT) ₈ (CA) ₁₂	88-112	60° C	F: 6FAMGAAAACTCACACGGTCACTTG R: GGCTTGCCAACCTGAGATTA
Chy008	AY189832	(TC) ₆ (TGTC) ₉ (TC) ₃	106-152	61° C	F: NED ATTGATGAGGGTTCAGACGG R: GGCAGCAGTTCAGGAGGTTA
Chy008A	AY135026	(TG) ₁₂	89-119	62° C	F: VIC GATGGGAGACTCCAACCTGA R: CCCATCTTGTGGAGGTTGAT
Chy023	AY135027	(TG) ₃ TCAG(TG) ₃ CACTAG(TG) ₃ TCAG(TG) ₃ TCAG(TG) ₃	107-163	58° C	F: 6FAM GGGCTCATGACACAAATTC R: CCAAACATGTGAGTGCTGCT
Chy037	AY135028	(TG) ₈	69-93	60° C	F: NED GATATCAGGCTCCTGCTTG R: GGGATTGGTTCCTCACTCT

pb: pares de bases.

8.5 Genotipificación

A las condiciones de amplificación exitosas durante la estandarización (concentración de reactivos y temperatura de alineamiento), se hace una amplificación de las muestra con el

primer que amplifica en dirección 5'→30' "forward" marcado con algún fluorocromo en particular (ver Tabla 1), a un volumen final de 10 µl.

Se utilizó la técnica de paneles múltiples microsatelitales, es decir, una combinación de los productos de la reacción de PCR para diferentes *loci*, que fueron corridos en una sola línea de electroforesis capilar (PCR multiplex). Se hicieron dos mezclas independientes de reacción debido a la superposición o cercanía de rangos alélicos de los *loci*. El primero contiene los productos de reacción de los *loci* Chy002, Chy008A y Chy037; y el segundo, Chy008 y Chy23, en ambos se utiliza el estándar de tamaño Liz500. La electroforesis para la visualización, genotipificación y análisis de las bandas se realizó en el secuenciador automático 3100 Avant ABI Prism^{MR} de cuatro capilares con el apoyo del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología de la UNAM, México D.F. El análisis de los fluorogramas se hizo mediante el software GeneMapper 3.7 de Applied Biosystems®.

El uso de estos programas nos permitió definir el tamaño alélico para cada una de las muestras y para cada uno de los locus. Todos los datos fueron computarizados en una tabla de Excel®.

8.6 *Análisis de datos*

Una vez completada la base de datos de Excel®, ésta fue convertida a los formatos correspondientes mediante el software CONVERT (Glaubitz, 2004) y Formatomatic Ver. 0.8.1 (Manoukis, 2007). Además se utilizó como guía de manejo de programas el resumen publicado por Excoffier & Heckel (2006).

8.6.1 Análisis de diversidad genética

Para cada locus y localidad se realizó un conteo directo de alelos, para estimar el número promedio de alelos, el número efectivo de alelos, la riqueza alélica (ponderada por el mínimo tamaño de muestra: 20), el índice de fijación (f), las frecuencias alélicas y heterocigosis observadas y esperadas, todos los anteriores estimados mediante el software GenALEX 6.4 (Peakall & Smouse, 2006), el software FSTAT (Goudet, 2001) y el software Genetix 4.05 (Belkhir *et al.*, 1996).

8.6.2 Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento

Se realizó un conteo directo de los alelos presentes en cada individuo de cada localidad para los cinco diferentes *loci*. A partir de estos datos se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas, de aquí se obtuvieron valores de heterocigosidades observadas (H_o) y heterocigosidades esperadas (H_e) de acuerdo al equilibrio de Hardy-Weinberg y se realizó una prueba simple de Chi cuadrado para probar la hipótesis de cruzamientos al azar, mediante la prueba exacta implementada en el software Arlequín versión 3.5 (Excoffier *et al.* 2005), utilizando 1.000.000 pasos en la cadena de markov y 100.000 demorizaciones.

Adicionalmente se obtuvo la probabilidad de presencia de alelos nulos, de dominancia de alelos pequeños (por errores de amplificación de alelos de mayor tamaño), al igual que de errores ocasionados por *stutter bands* (errores debidos al resbalón de la polimerasa en el proceso de PCR) con el programa MICRO-CHECKER (Van Oosterhout *et al.* 2004).

La segregación independiente de los *loci* se corroboró mediante una prueba de desequilibrio de ligamiento en el programa Arlequín versión 3.5 (Excoffier *et al.* 2005), el cual realiza Cadenas de Markov con los parámetros, 10000 permutaciones y cuyos valores fueron corregidos aplicando el método de Bonferroni (Rice, 1989).

8.6.3 Análisis de estructura poblacional

Para determinar si existe algún grado de diferenciación genética dentro de aquellas localidades que fueron muestreadas durante dos años diferentes (LP, CSL, PM, MZ y HW), se realizó una prueba exacta de diferenciación poblacional génica (distribución de alelos) y genotípica (distribución de genotipos), bajo la hipótesis de una distribución aleatoria de los individuos entre pares de localidades, implementada en el programa Genepop v.4.0 (Raymond & Rousset, 1995), la cual utiliza cadenas de Markov asignándosele los siguientes parámetros: 10000 demorizaciones, 1000 *batches* y 5000 iteraciones por *batch*. Lo anterior para determinar el manejo de los datos, es decir, si utilizarlos teniendo en cuenta el eje temporal en tal caso de observar diferenciación u homogenizar las muestras de años diferentes como una sola en caso de que no exista una diferenciación significativa.

Con el fin de estimar la diferenciación genética entre pares de localidades se calcularon los estadísticos F de Wright, F_{ST} , F_{IS} y F_{IT} (Weir & Cockerham, 1984) mediante las pruebas

implementadas en el programa Arlequín versión 3.5 (Excoffier *et al.* 2005) con 10000 permutaciones y en el software FSTAT (Goudet, 2001) para obtener los valores por *locus* y de todos los *loci*. Los estadísticos F miden la probabilidad de que dos pares de alelos tomados al azar sean iguales por descendencia, en tres casos: de los individuos con respecto a la subpoblación (F_{IS}), de los individuos con respecto a la población total (F_{IT}) y de las subpoblaciones con respecto a la población total (F_{ST}). Lo anterior bajo consideraciones y supuestos tales como, un modelo mutacional de alelos infinitos. Adicionalmente a esta prueba se realizó un análisis refinado de F_{ST} por exclusión de alelos nulos en el software FreeNA (Chapuis & Estoup, 2007), el cual estima los valores de F_{ST} de Weir, utilizando la corrección denominada ENA (excluyendo alelos nulos, por sus siglas en inglés), que se basa en la estimación de frecuencias de alelos nulos y visibles para cada locus y población, la asignación de un tamaño alélico no presente en el set de datos original a un alelo nulo, el ajuste de las frecuencias genotípicas basado en la estimación previa de las frecuencias alélicas y el cálculo de los F_{ST} .

En el caso de los F_{ST} , el poder estadístico (el rechazo de la H_0 de homogeneidad genética entre dos subpoblaciones cuando es falso) se estimó con el software POWSIM (Ryman & Palm, 2006), el programa detecta diferenciación poblacional usando pruebas exactas de Fisher y de Chi-cuadrado, generando datos al azar de subpoblaciones que divergieron a partir de una población base, de forma que cada subpoblación es muestreada y sometida a una prueba de homogeneidad, de la cual los valores de probabilidad son utilizados para estimar el poder estadístico en las condiciones actuales. El análisis se hace bajo los supuestos de no mutación y no migración (modelo Wright-Fisher) con una población inicial infinita que segrega S subpoblaciones de tamaño efectivo poblacional N_e iguales, en un muestreo al azar de $2N_e$ genes. De modo que en cada subpoblación se simula varios eventos de deriva génica por t generaciones, y consecuentemente el grado de divergencia genética esperada en la generación t es $F_{ST} = 1 - (1 - 1/2N_e)^t$, el proceso es repetido varias veces en r número de corridas independientes (Ryman & Palm, 2006).

Para estimar el poder estadístico de detectar diferenciación genética entre poblaciones hipotéticas de dorado, el escenario utilizado consideró quince poblaciones putativas, y realizando simulaciones de diferentes combinaciones de N_e/t que conlleven a obtener F_{ST} s de 0.001, 0.005 y 0.02, los cuales reflejan las magnitudes de los valores estimados en los datos empíricos (ver Tabla 5). Particularmente nueve combinaciones fueron hechas 2500/5, 5000/10 y 10000/25 (las cuales resultan en un $F_{ST} = 0.001$); 500/5, 100/10 y 2000/20 (las

cuales resultan en un $F_{ST}= 0.005$); y 500/20 y 1000/40 (las cuales resultan en un $F_{ST}= 0.02$); adicionalmente se realizó una simulación en un escenario con ausencia de divergencia entre las muestras: 1000/0. Se realizaron 500 corrimientos en cada uno de los casos y los resultados se reportaron como la proporción que indicaron diferenciación significativa en estas pruebas a un $p < 0.05$,

Para estimar la partición de la variación genética en diferentes niveles jerárquicos y explicar donde están concentradas las diferencias, si dentro de las poblaciones, entre las poblaciones, o entre regiones, se hizo un análisis de varianza molecular (AMOVA, Excoffier *et al.*, 1992) en el software Arlequín versión 3.5 (Excoffier *et al.* 2005). Se diseñaron tres AMOVAS cuya estructura consistió en cuantificar las diferencias en los siguientes niveles: 1) las colectas de los grupos al Norte (localidades situadas en México, HW y JP) y Sur (EC, PE y NC) de la zona ecuatorial del Océano Pacífico; 2) las localidades agrupadas en las regiones Oriente (México, PE y EC), Centro (HW) y Occidente (JP y NC) del Pacífico y; 3) considerando grupos latitudinales y longitudinales considerando seis grupos: 1- Pacífico Nororiental (LP, CSL, GY, OC, PM, MZ, PL y BM), 2- Pacífico Suroriental (EC y PE), 3- Pacífico Central (HW), 4- Pacífico Noroccidental (JP) y 5- Pacífico Suroccidental (NC). Para cada análisis se realizaron 10000 permutaciones y se calcularon los estadísticos F (F_{IT} , F_{IS} , F_{SC} y F_{CT}).

Para investigar el número de grupos geográficamente homogéneos y máximamente diferenciados de otros se utilizó el programa SAMOVA 1.0 haciendo pruebas de 2 a 12 grupos con 10.000 permutaciones cada prueba y un nivel de significancia del 95% (Dupanloup *et al.*, 2002)

Para inferir el número de poblaciones ocasionadas por una estructuración genética, se corrió el software STRUCTURE 2.1 (Pritchard *et al.* 2000) el cual utiliza métodos bayesianos y parte de la información de los genotipos por medio de una distribución de probabilidades calculadas con cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), calculando así el logaritmo de la probabilidad de una K (número de poblaciones) dada. Un análisis preliminar fue conducido para obtener los parámetros de *burning* y número de MCMC. Se asumió un modelo de mezcla suponiendo que los individuos tienen una ancestría mezclada y frecuencias alélicas correlacionadas debido a procesos de migración. Los parámetros seleccionados para el análisis fueron: *burning length* 70.000, longitud de la corrida de 100.000 pasos y se realizó un análisis que no tuviera en cuenta la información de la procedencia de los individuos y otro que si considera el origen.

Para la representación de la cercanía genética entre las localidades y relación entre las mismas se utilizó una matriz de F_{ST} 's linearizados de Slatkin (1995) (ver apartado 8.6.4) con el cual se construyó un árbol con el algoritmo UPGMA en el software Mega 5 (Tamura *et al.*, 2007), éste método asume que la tasa de mutación es constante e igual para todos las posibles poblaciones.

Además se estimó el estadístico *ad hoc* de Evanno, ΔK , el cual está basado en la tasa de cambio del logaritmo de la probabilidad de los datos entre sucesivos valores de K. Este estadístico nos permite detectar el número de clusters a partir de la información arrojada por el software STRUCTURE (Evanno *et al.*, 2005)

8.6.4 Análisis de aislamiento por distancia

Se realizó el cálculo de la distancia linearizada de la F_{ST} según de Slatkin (1995) en el software Arlequín versión 3.5 (Excoffier *et al.*, 2005) los cuales consideran un modelo mutacional *stepwise*, el cual consiste en términos generales en que cada mutación crea un alelo nuevo por la adición o deleción de una unidad de repetición del microsatelite, con igual probabilidad en ambas direcciones (Kimura & Ohta, 1978), además de un modelo demográfico simple, en la cual dos poblaciones de igual tamaño han divergido de una población ancestral hace τ generaciones y las cuales han permanecido separadas desde entonces, es decir, no hay flujo génico. Bajo estas condiciones el F_{ST} puede ser expresado en términos de tiempos de coalescencia \bar{t}_1 , el cual es el tiempo de coalescencia medio en que dos genes se segregan en dos poblaciones diferentes, y \bar{t}_0 el cual es el tiempo medio de coalescencia medio en que dos genes se segregan a una misma población, resultando en: $F_{ST} = \frac{\bar{t}_1 - \bar{t}_0}{\bar{t}_1}$. Debido a que \bar{t}_0 es igual a N, el número de generaciones, y \bar{t}_1 es igual a $\tau + N$ generaciones, entonces la ecuación se reduce a $F_{ST} = \frac{\tau}{\tau + N}$, por lo cual el estadístico es proporcional al tiempo de divergencia entre las dos subpoblaciones.

Una vez obtenidos los estadísticos se realizó una matriz entre pares de poblaciones la cual fue comparada con las distancias geográficas y se obtuvieron los coeficientes de correlación realizados en la prueba de Mantel implementada en el software Arlequin versión 3.5 (Excoffier *et al.*, 2005) con 10000 repeticiones. La prueba está diseñada para medir la

asociación entre dos matrices, teniendo en cuenta la correlación que existe entre los elementos de cada matriz.

8.6.5 Estimación de tamaño efectivo poblacional y flujo génico

Para la estimaciones de los tamaños efectivos recientes, se utilizó el software NeEstimator (Peel *et al.*, 2004) el cual estima el número efectivo de desovantes en una población genéticamente cerrada (bajo un modelo Wright-Fisher) usando genotipos diploides de una muestra de la población. Utiliza seis métodos en general, sin embargo, para cumplir el objeto del presente trabajo se utilizaron dos, el método de exceso de heterocigotos. y el método de desequilibrio de ligamiento

El método de exceso de heterocigotos (Pudovkin *et al.*, 1996) mide el incremento en las proporciones observadas de heterocigotos por encima de la esperada en poblaciones bajo equilibrio de Hardy-Weinberg, como resultado de diferencias en las frecuencias alélicas entre sexos. Dado que una sola generación es suficiente para recuperar las proporciones en Hardy-Weinberg. El método de desequilibrio de ligamiento usado por Bartley (1992) mide la desviación de las frecuencias gaméticas con respecto a las esperadas en un sistema con apareamiento al azar, la cual depende de la asociación de los alelos de diferentes *loci*. Ambos métodos proveen un estimado del tamaño efectivo de los parentales que dieron progenie de la cual fue tomada la muestra, sin embargo se debe tener en cuenta que el método de desequilibrio de ligamiento está influenciado por efectos o cambios en tamaños poblacionales ocurridos en generaciones anteriores a la parental, es decir, por efectos históricos (Waples, 2005).

Para determinar el flujo génico reciente se uso el software BayesAss (Wilson & Rannala, 2003), el cual estima las tasas de migración recientes m entre poblaciones a partir de datos genotípicos utilizando un marco de inferencia Bayesiana y utilizando el desequilibrio gamético de los inmigrantes y sus descendientes, además se ha demostrado no ser sensible a desviaciones al equilibrio de Hardy-Weinberg. Este fue corrido con 3×10^6 iteraciones, muestreadas cada 2000 ciclos y las primeras 1×10^6 fueron desechadas como *burn in*.

Para la estimación de tamaños efectivos históricos, se utilizó el programa MIGRATE 3.0 (Beerli, 2008) el cual calcula para cada población los valores de theta (θ). Éste considera la fórmula $\theta = 4N_e\mu$, donde N_e es el tamaño efectivo poblacional y μ la tasa de mutación del

marcador en evaluación. Adicionalmente, para obtener el nivel de flujo génico histórico entre las trece localidades, fueron utilizadas las estimaciones de M el cual representa una medida de la contribución de la inmigración sobre la mutación en originar nuevas variantes y que equivale a m/μ , donde m es la tasa de migración por generación y μ , como en el caso anterior es la tasa de mutación por generación. A partir del valor de M se calculó Nm (número de migrantes por generación) mediante la fórmula $Nm = \frac{\theta M}{4}$, y para que los resultados históricos obtenidos de flujo génico M fueran comparables con los estimados de m originados por BayesAss, la proporción de migrantes m de la población i a la población j , fueron calculados usando la fórmula $m_{i \rightarrow j} = M_{i \rightarrow j} \mu$, donde $\mu = 10^{-4}$ tanto para el cálculo de Ne como para el cálculo de m . El análisis bayesiano se llevó a cabo utilizando el modelo browniano para microsatélites (el cual es un aproximación del modelo mutacional *stepwise*), la estrategia empleada fue utilizar a una tasa de mutación constante para todos los *loci*, una cadena larga con 5000 genealogías y muestreo cada 100 ciclos. Los primeros 10000 árboles del período de calentamiento (*burn in*) fueron desechados. Adicionalmente, se uso el esquema MCMCMC (Cadenas de Markov Monte Carlo conjunto con Markov), el cual permite correr múltiples cadenas a diferentes temperaturas (*heating* igual a 4 en nuestro caso), la más “caliente” explora más espacio de genealogías que la cadena “fría” (Beerli, 2008). Cinco réplicas se corrieron independientemente para explorar la congruencia de los datos.

Para determinar la correlación en los estimados recientes e históricos de flujo génico y tamaño efectivo poblacional se realizó la prueba *t-student* pareada, para la comparación de los tamaños efectivos Ne y proporción de migrantes por generación m (Reed *et al*, 2009). Además, se compararon las matrices asimétricas de estimados de flujo génico bidireccional reciente e histórico (proporción de migrantes m) utilizando una prueba de Mantel implementada en CADM (Congruencia Entre Matrices de Distancia, por sus siglas en inglés; Legendre & Lapointe, 2004; Fraser *et al*, 2007; Howes *et al*, 2008).

IX. RESULTADOS

9.1 Genotipificación

En total se analizaron 720 muestras procedentes de la cuenca oceánica del Pacífico, es necesario recalcar que para un total de 56 muestras (7.77%) procedentes de varias localidades no se obtuvo la información para los cinco *loci* microsatelitales, pero si mínimo para tres (Tabla 2).

Los tamaños alélicos obtenidos para cada *locus* coincidieron con el tamaño que presentan las secuencias del Genebank, en donde fueron reportados los *primers* microsatelitales para *C. hippurus* por Elby *et al*, (2002).

Tabla 2. Número de muestras analizado (N) por *locus* por población.

	Chy008	Chy023	Chy002	Chy008A	Chy37
LP	75	76	75	75	77
CSL	65	64	63	64	65
GY	36	36	36	36	36
OC	49	49	49	49	49
PM	93	93	93	92	93
MZ	75	74	76	75	76
PL	55	55	50	53	55
BM	20	20	20	20	20
PE	42	42	41	41	41
EC	49	49	47	46	48
JP	38	37	42	43	43
NC	37	37	39	37	39
HW	70	72	75	75	74
TOTAL	704	704	706	706	716

9.2 Análisis de datos

9.2.1. Análisis de diversidad genética

Todos los loci resultaron polimórficos, la diversidad alélica (número de alelos/número de loci) es igual a 18.2, el número de alelos por locus varía entre 13 alelos (Chy002 y Chy037) a 26 alelos (Chy023) con un promedio general de 12.646 alelos, siendo la muestra BM la que presenta el menor número de alelos en promedio (10.6) y Hawái la que presenta el mayor número promedio de alelos (14.8). El número efectivo de alelos, que es el número de alelos necesarios para resultar en una heterocigosis igual a que si todos los alelos fuesen igualmente frecuentes (Frankham *et al.*, 2010) fue menor para JP (5.9) y mayor para PL (7.4). La riqueza alélica calculada, para un valor muestral ponderado de 20 N, resultó en un promedio de todos los loci mayor para HW (10.719) y menor para JP (9.126).

Los valores de heterocigosis media observada por localidad fluctuaron entre 0.758 (PL) y 0.879 (NC), y con respecto a la heterocigosis media esperada los valores se encontraron entre 0.816 (MZ) y 0.845 (HW). Los dos parámetros presentaron un promedio entre loci y entre poblaciones de 0.830.

En general se obtuvieron alelos privados para cuatro loci en 5 poblaciones, sin embargo, cada población se caracterizó por presentar solo un alelo privado en un locus, a excepción de de HW que presentó dos alelos para loci diferentes (Tabla 4).

Tabla 3. Índices de diversidad genética para el dorado, *Coryphaena hippurus*, por localidad por locus.

Población		Chy008	Chy023	Chy002	Chy008A	Chy037
LP	A	17	17	8	13	10
	Ne	7.387	10.133	3.597	6.144	4.670
	Ra	11.802	13.077	5.704	10.440	7.823
	Ho	0.800	0.961	0.680	0.840	0.883
	He	0.865	0.901	0.722	0.837	0.786
	H-W	0.257	0.814	0.176	0.173	0.118
	f	0.081	-0.059	0.065	0.003	-0.117
CSL	A	16	20	8	13	9
	Ne	7.095	10.952	4.500	5.856	5.351
	Ra	11.180	14.154	6.951	9.922	7.532
	Ho	0.862	0.953	0.825	0.813	0.738

	He	0.859	0.909	0.778	0.829	0.813
	H-W	0.634	0.203	0.788	0.054	0.000
	f	0.005	-0.041	-0.053	0.028	0.100
GY	A	16	16	8	12	8
	Ne	7.005	10.891	4.050	6.579	4.167
	Ra	12.777	13.572	6.583	10.158	6.902
	Ho	0.917	0.972	0.861	0.833	0.806
	He	0.857	0.908	0.753	0.848	0.760
	H-W	0.190	0.178	0.052	0.331	0.264
	f	-0.055	-0.056	-0.130	0.031	-0.046
OC	A	17	15	7	12	8
	Ne	6.302	10.416	4.125	6.149	4.176
	Ra	12.435	12.812	6.134	9.661	6.265
	Ho	0.816	0.918	0.694	0.878	0.816
	He	0.841	0.904	0.758	0.837	0.761
	H-W	0.164	0.390	0.155	0.185	0.177
	f	0.040	-0.006	0.094	-0.038	-0.063
PM	A	20	22	8	14	9
	Ne	7.942	10.818	4.395	6.267	4.189
	Ra	12.539	13.991	6.153	9.666	6.296
	Ho	0.839	0.903	0.731	0.837	0.828
	He	0.874	0.908	0.772	0.840	0.761
	H-W	0.338	0.576	0.290	0.254	0.038
	f	0.046	0.010	0.059	0.010	-0.082
MZ	A	17	21	11	11	9
	Ne	6.564	10.822	4.176	6.078	3.655
	Ra	11.548	13.663	6.756	8.827	6.383
	Ho	0.813	0.892	0.711	0.840	0.737
	He	0.848	0.908	0.761	0.835	0.726
	H-W	0.081	0.315	0.313	0.044	0.565
	f	0.047	0.024	0.072	0.001	-0.008
PL	A	16	20	7	14	11
	Ne	6.355	10.577	3.864	10.909	5.093
	Ra	11.925	14.150	5.442	12.584	8.558
	Ho	0.782	0.873	0.600	0.774	0.764
	He	0.843	0.905	0.741	0.908	0.804
	H-W	0.085	0.022	0.014	0.000	0.270
	f	0.081	0.045	0.200	0.158	0.059
BM	A	14	14	6	11	8
	Ne	8.081	9.195	4.020	6.780	4.145

	Ra	14.000	14.000	6.000	11.000	8.000
	Ho	0.900	0.900	0.650	0.900	0.800
	He	0.876	0.891	0.751	0.853	0.759
	H-W	0.546	0.394	0.163	0.372	0.293
	f	-0.001	0.016	0.160	-0.030	-0.029
PE	A	15	18	10	12	7
	Ne	8.932	9.827	4.489	7.800	4.366
	Ra	12.695	14.062	7.432	10.730	6.735
	Ho	0.786	0.952	0.683	0.854	0.951
	He	0.888	0.898	0.777	0.872	0.771
	H-W	0.011	0.175	0.127	0.088	0.001
	f	0.127	-0.048	0.133	0.033	-0.222
EC	A	18	16	9	12	8
	Ne	10.067	9.095	4.002	7.794	4.590
	Ra	13.618	12.719	6.814	10.141	6.245
	Ho	0.898	0.837	0.702	0.826	0.854
	He	0.901	0.890	0.750	0.872	0.782
	H.W	0.064	0.341	0.112	0.180	0.486
	f	0.013	0.070	0.075	0.063	-0.082
JP	A	14	15	7	10	9
	Ne	6.238	7.669	4.210	5.742	5.707
	Ra	10.610	12.077	6.066	9.119	7.757
	Ho	0.895	0.892	0.786	0.837	0.721
	He	0.840	0.870	0.762	0.826	0.825
	H-W	0.263	0.443	0.253	0.544	0.002
	f	-0.052	-0.012	-0.018	-0.002	0.137
NC	A	13	14	7	12	9
	Ne	7.057	8.399	4.500	6.323	4.083
	Ra	10.770	11.428	6.350	10.832	7.252
	Ho	0.811	0.946	0.795	0.973	0.872
	He	0.858	0.881	0.778	0.842	0.755
	H-W	0.186	0.148	0.410	0.017	0.052
	f	0.069	-0.060	-0.009	-0.142	-0.142
HW	A	17	22	10	13	13
	Ne	7.846	11.227	4.902	6.212	5.218
	Ra	12.374	14.990	7.290	10.258	8.684
	Ho	0.843	0.901	0.747	0.867	0.770
	He	0.873	0.911	0.796	0.839	0.808
	H-W	0.000	0.199	0.042	0.569	0.000
	f	0.041	0.018	0.069	-0.026	0.054

A , número de alelos; N_e , número de alelos efectivo; R_a , Riqueza alélica; H_o , heterocigosidad observada; H_e , heterocigosidad esperada; $H-W$, probabilidad obtenida mediante la prueba de Hardy-Weinberg; f , índice de fijación. Los valores marcados en negrita representan significancia estadística ($p < 0.05$).

Tabla 4. Alelos privados por población por *locus*.

Población	Alelos Privados			
	Chy008	Chy002	Chy023	Chy037
GY	162 (0.014)			
PM			105 (0.022)	
MZ		90 (0.007)		
EC			163 (0.012)	
HW			147 (0.008)	69 (0.007)

Entre paréntesis () se indica la frecuencia del alelo en cada población

9.2.2 Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento

Al probar la hipótesis nula de unión aleatoria de los gametos mediante las pruebas de exceso o déficit de heterocigotos implementadas en el software Genepop v.4.0 (Raymond & Rousset, 1995) utilizando el algoritmo de Cadenas de Markov para estimar la desviación al valor p de la prueba (Guo & Thompson, 1992), se obtuvo que, el *locus* Chy037 fue aquel con mayor número de localidades (5; CSL, PM, PE, JP y HW) que presentaron desviaciones significativas al equilibrio de Hardy-Weinberg, seguido por el *locus* Chy008A para las poblaciones (PL, MZ y NC). Respecto de los *loci* Chy002 y Chy008, éstos mostraron desviaciones del equilibrio en dos poblaciones del total (PL y HW; y PE y HW, respectivamente), mientras que el *locus* Chy023 mostró desviaciones únicamente en PL (Tabla 3). En términos de localidades, aquellas con mayor número de *loci* en desviación fueron PL y HW, presentando valores significativos en tres de los cinco marcadores.

Las estimaciones de F_{IS} nos indican que las desviaciones significativas son debidas a un déficit de heterocigotos en el *locus* Chy008 para las muestras HW ($p= 0.000$) y PE ($p= 0.011$); en el *locus* Chy023 para PL ($p= 0.022$); en el *locus* Chy002 para HW ($p= 0.042$) y

para PL ($p=0.014$); en el *locus* Chy008A para PL ($p= 0.000$) y MZ ($p=0.044$); y en el *locus* Chy037 para HW ($p= 0.000$), JP ($p= 0.002$) y CSL ($p= 0.000$).

En el análisis realizado para evaluar la presencia de alelos nulos por posibles errores de genotipificación, se encontraron los siguientes *loci* y localidades con evidencia de alelos nulos: Chy002 y Chy008A en PL, Chy008 en PE; con un intervalo de confianza del 95%. Por lo cual, sólo para los casos anteriormente descritos la desviación al equilibrio de Hardy-Weinberg puede ser explicada por la presencia de alelos nulos, basándonos en los resultados obtenidos en el software MICRO-CHECKER (Van Oosterhout *et al.*, 2004).

En la prueba de desequilibrio por ligamiento entre pares de *loci* por localidad, después de aplicar las correcciones por Bonferroni para pruebas múltiples (Rice, 1989) se obtuvieron resultados significativos para en tan solo tres de las ciento treinta pruebas por pares, estas fueron: LP en dos de diez posibles combinaciones, las cuales son Chy023-Cy002 ($p=0.0007$) y Chy023-Chy037 ($p=0.000$) y para PE en Chy008-Chy037 ($p=0.0011$). Los resultados anteriores involucran *loci* diferentes, lo cual sugiere que los marcadores utilizados en el presente trabajo evolucionan independientemente.

9.2.3 Estructura poblacional

En aquellas localidades en que las colectas se realizaron en diferentes años se realizó una prueba exacta de diferenciación génica y genotípica, con el fin de evaluar posibles diferencias genéticas entre años dentro de localidades, es decir, entre muestreos temporales. En conclusión, sólo se encontraron valores significativos para la prueba realizada entre CSL 2003 y 2006 ($p= 0.007$ y 0.013 , para diferenciación génica y genotípica, respectivamente) y para la prueba realizada entre MZ 2003 y 2004 ($p= 0.012$ y 0.023 , para diferenciación génica y genotípica, respectivamente), es necesario recalcar que estos resultados se obtuvieron en un análisis considerando solo comparaciones entre los muestreos temporales de una misma localidad, sin tener en cuenta el resto de las localidades.

Cuando se realizó la prueba exacta considerando todas las localidades no se encontraron diferencias significativas para ninguno de los pares ni temporales ni espaciales. Por lo que para fines de análisis estadístico de datos, de estructura espacial, las muestras de CSL y MZ de diferentes años fueron tomadas como muestras independientes.

El valor de F_{ST} global fue altamente significativo de 0.0058 ($p= 0.000$), así como los valores del estimado por *locus* fueron: 0.002 (Chy008), 0.003 (Chy023), 0.001 (Chy002) y 0.013 (Chy008A y Chy037), lo cual sugiere que la señal de diferenciación proviene de los marcadores Chy008A y Chy037.

Para algunas localidades resultaron significativos ($p < 0.05$) los valores de F_{ST} entre pares (Tabla 5), de los que se desprenden algunos patrones relevantes: primero, la localidad de CSL06 resulta significativamente diferente del resto de las poblaciones analizadas exceptuando CSL03; segundo, la población de EC presenta diferencias significativas con respecto a todas las poblaciones excepto de PL, BM y JP; otras poblaciones que presentaron alta frecuencia de diferencias significativas fueron LP y HW, cada una siendo diferente de ocho poblaciones; a su vez, MZ04 y PE resultaron diferentes de siete poblaciones cada una. Y aquellas con menor número de diferencias fueron PL y NC cuyas diferencias fueron significativas solo contra dos poblaciones cada una; BM presentó diferencias significativas con respecto a CSL06 (Ver Tabla 5). Los valores de F_{ST} se encuentran entre 0.001 y 0.023, lo cual nos puede estar indicando una leve diferenciación, es necesario recalcar que los valores más altos (>0.01) están concentrados principalmente en las diferencias de CSL03 y CSL06 respecto a las demás.

Los valores obtenidos en las estimaciones de F_{ST} una vez hechas las correcciones por alelos nulos en el software FreeNA (Chapuis & Estoup, 2007) fueron semejantes a los que se obtuvieron sin las correcciones y no se encontró ninguna variación significativa (datos no presentados).

El poder estadístico de la prueba para detectar diferenciación entre las muestras mostró que un 100% de las pruebas hechas con las combinaciones Ne/t que resultan en un $F_{ST} = 0.02$, 0.005 fueron significativas estadísticamente. Por otro lado, la pruebas que resultan en valores menores de diferenciación, $F_{ST}= 0.001$, arrojaron una significancia en el 48%, 56% y 65% de los casos (2500/5, 5000/10 y 10000/25 respectivamente). Estos resultados indican que el tamaño muestral y el conjunto de marcadores moleculares trabajados tienen el poder de identificar diferenciación genética entre los datos, pero presenta problemas cuando los niveles son bastante bajos. Cuando el F_{ST} a simular fue 0, es decir, simulando no diferenciación, el 7% de las corridas mostraron significancia estadística, lo cual se encuentra cerca a la tasa de error esperada o valor alfa del 5%.

Tabla 5. Estimados de diferenciación genética (F_{ST}) entre localidades de *Coryphaena hippurus*.

	LP	CSL03	CSL06	GY	OC	PM	MZ03	MZ04	PL	BM	PE	EC	JP	NC	HW
LP	*														
CSL03	0.011	*													
CSL06	0.013*	0.008	*												
GY	0.000	0.001	0.012*	*											
OC	0.001	0.008	0.016*	-0.002	*										
PM	0.007	0.009	0.017*	0.000	0.001	*									
MZ03	0.005	0.002	0.018*	-0.001	0.002	0.004	*								
MZ04	0.006	0.020	0.023*	0.004	0.008	0.008	0.000	*							
PL	0.004	0.015	0.015*	-0.001	0.001	0.004	-0.002	0.003	*						
BM	0.003	0.013	0.013*	0.000	-0.002	-0.002	0.007	0.006	0.000	*					
PE	0.009	0.023	0.023*	0.005	0.007	0.009	0.006	0.004	0.002	0.000	*				
EC	0.007	0.014	0.014*	0.008	0.008	0.006	0.012	0.009	0.003	-0.002	0.007	*			
JP	0.004	0.010	0.010*	0.001	0.002	-0.002	0.003	0.011	0.001	-0.006	0.009	0.004	*		
NC	0.001	0.018	0.018*	-0.003	0.001	0.003	-0.003	0.004	0.001	0.004	0.004	0.012	0.002	*	
HW	0.005	0.014	0.014*	-0.001	0.001	0.001	0.007	0.011	0.002	-0.002	0.009	0.006	0.002	0.002	*

En negrita se resaltan los valores que presentan una significancia estadística de 0.05 y con asterisco se resaltan aquellos valores significativos después de aplicar las correcciones por Bonferroni (Rice, 1989).

En los diferentes análisis jerárquicos de AMOVA realizados los resultados obtenidos sugieren que el componente de la varianza esta 97.7% explicado por la variación de los individuos (Tabla 6). Con respecto a los estadísticos F obtenidos en cada uno de los análisis resultó:

- Análisis entre Pacífico Norte y Sur: Se obtuvo un $F_{CT} = -0.00028$ ($p = 0.568$), lo que sugiere que no existe evidencia estadísticamente significativa para rechazar la hipótesis de homogeneidad genética entre el Pacífico Norte y Sur.
- Análisis entre Pacífico Oriental, Central y Occidental: Se obtuvo $F_{CT} = -0.00058$ ($p = 0.5709$), lo que sugiere que no existe evidencia estadísticamente significativa para rechazar la hipótesis de homogeneidad genética entre el Pacífico oriental, central y occidental.
- Análisis entre Pacífico nororiental, noroccidental, centro, suroriental y suroccidental: Se obtuvo un $F_{CT} = 0.00017$ ($p = 0.411$), lo que sugiere que no existe evidencia estadísticamente significativa para rechazar la hipótesis de homogeneidad genética entre el Pacífico nororiental, noroccidental, centro, suroriental y suroccidental.
- Por último los resultados obtenidos en el análisis global entre poblaciones, todas agrupadas como un mismo grupo se obtuvo un $F_{ST} = 0.0062$ ($p = 0.0173$) lo que revela que en la comparación entre todas las localidades se esboza un nivel de estructuración o diferenciación genética que aunque es bajo, es significativo; sin embargo, es necesario recalcar que el componente de la varianza en este análisis está dada principalmente por la diferencia entre individuos dentro de todas las poblaciones ($F_{IT} = 0.020$, $p = 0.0021$).

Tabla 6. Análisis de Varianza Molecular AMOVA para poblaciones del Océano Pacífico de *Coryphaena hippurus*

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Componentes de la Varianza	Porcentaje de variación	Valor p
Entre Pacífico Norte y Pacífico Sur	3.057	-0.00058	-0.02770	0.568
Entre Pacífico oriental y central, occidental	6.691	-0.00122	-0.05811	0.571
Pacífico Nororiental, suroriental, central, noroccidental y suroccidental	13.906	0.00035	0.01679	0.411
Entre poblaciones	46.751	0.01307	0.61979	0.079
Dentro de las poblaciones	1464.238	0.02867	1.35965	0.023
Dentro de individuos	1456	2.06683	98.02056	0.002
TOTAL	2966.990	2.10857		

Dado que los resultados de los análisis de AMOVA no resultaron significativos para las agrupaciones seleccionadas, se realizó una prueba en el software SAMOVA, el cual considerando los datos genéticos y geográficos (latitud y longitud) hace la separación de las localidades en un número determinado de grupos y nos arroja los valores de F_{CT} . Obteniendo un valor para cada número de grupos se puede detectar cuando el componente de la varianza entre grupos es maximizado (cuando la diferencia entre los grupos es mayor), lo cual refleja un posible agrupamiento natural de las muestras.

Los resultados considerando las trece localidades nos arrojó que el agrupamiento donde se maximiza el componente de la varianza, es decir, aquel en el que los grupos son más diferentes entre sí, es en 12 grupos, en el cual están todas localidades separadas conformando grupo independientes exceptuando GY y BM las cuales conforman un solo grupo. Esta separación explica un 2.19% de la varianza.

Hecho el mismo análisis sin tener en cuenta aquellas localidades que introducen más variación a los resultados, es decir, eliminando CSL06 y MZ04. Se obtuvo que son diez los grupos que se forman y estos explican el 2.11% de la varianza. Estos grupos al igual que el caso anterior son las localidades formando un solo grupo exceptuando de nuevo la unión de GY y BM además de la conformación de un grupo por CSL, PL y JP.

En el análisis bayesiano para determinar estructura genética realizado con STRUCTURE (Pritchard, *et al.*, 2000) sin tener en cuenta la procedencia de las muestras (no información *a priori*), se obtuvo que el índice de verosimilitud decrece cuando los estimados aumentan de 1 a 13 K , obteniendo el valor más alto para $K=1$ ($\ln P(D) = -15394$) sugiriendo que no existe subdivisión poblacional y que todo forma parte de un solo pool de genes (Figura 7). Sin embargo, cuando se hace el cálculo del estadístico *ad hoc* de Evanno detecta que el número de clusters son dos ($K=2$), aunque se debe resaltar que en $K=5$ se encuentra un pico de igual magnitud a $K=2$ (Fig. 8). De igual forma el estadístico *ad hoc* de Evanno, es útil cuando en el análisis de la probabilidad se obtiene evidencia de estructuración poblacional, lo cual no es nuestro caso, debido a que la matemática desarrollada para éste estimado no calcula valores de ΔK cuando K es igual a 1.

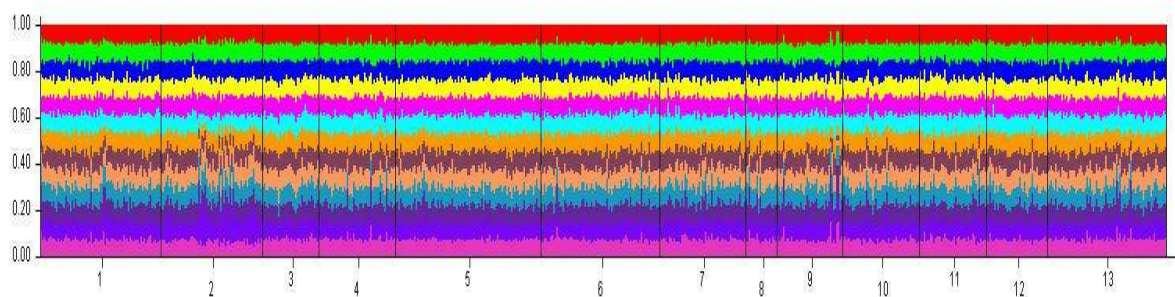


Fig. 7. Prueba de $\ln P(D)$ desarrollada por STRCUTURE (Pritchard *et al.*, 2000). Gráfica obtenida para $K=13$, en donde cada color representa una localidad. Bajo los parámetros de mezcla y correlación de frecuencias, sin información *s a priori* del origen de los datos.

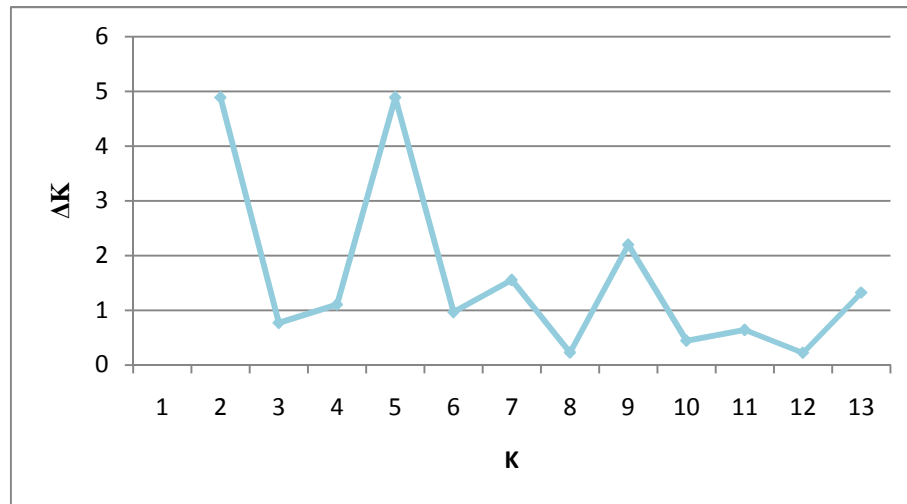


Fig. 8 Estadístico *ad hoc* de Evanno ΔK calculado con los datos arrojados en el modelo de mezcla y correlación de frecuencias sin información *a priori* de la procedencia de las muestras. Cuyo valor modal de la distribución representa el valor *real* de K o del más alto nivel de estructura.

Los autores explican que las inconsistencias entre los valores de F_{ST} y el resultado arrojado por STRUCTURE, pueden deberse a que el modelo básico del software resuelve la identificación de *clusters* de poblaciones sin tener previa información de un agrupamiento, por esta razón, STRUCTURE puede no tener datos suficientes para detectar u obtener la respuesta “adecuada” (Pritchard *et al.*, 2000). En el análisis realizado considerando el origen geográfico de las muestras, a las mismas condiciones del análisis anterior, se obtiene que el valor de las probabilidades es variable y encuentra su máximo cuando $K= 13$ ($\log P(D)= -15302$), sugiriendo que cada localidad corresponde a una población diferenciada (Figura 9).

Al igual que en el caso anterior, al realizar el cálculo del estadístico de Evanno resultó que el número *real* de clusters, bajo los parámetros de mezcla y correlación de frecuencias además de la información de origen de las muestras, es igual a dos ($K=2$) (Fig. 10)

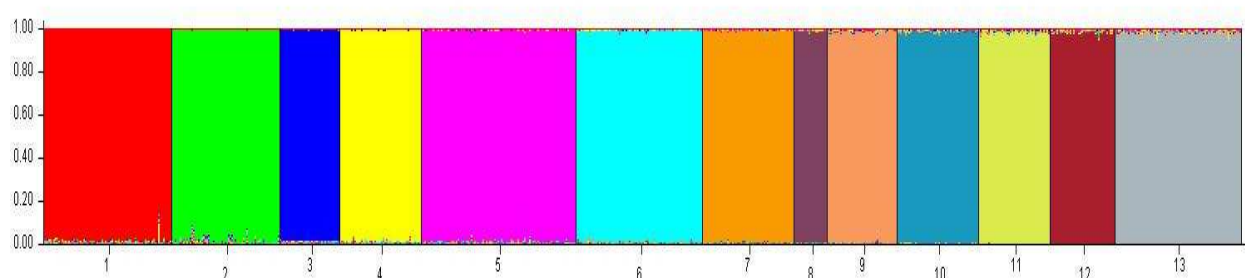


Fig. 9. Prueba de LnP(D) desarrollada por STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). Gráfica obtenida para $K=13$, en donde cada color representa una localidad. Bajo los parámetros de mezcla y correlación de frecuencias y el modelo de información poblacional.

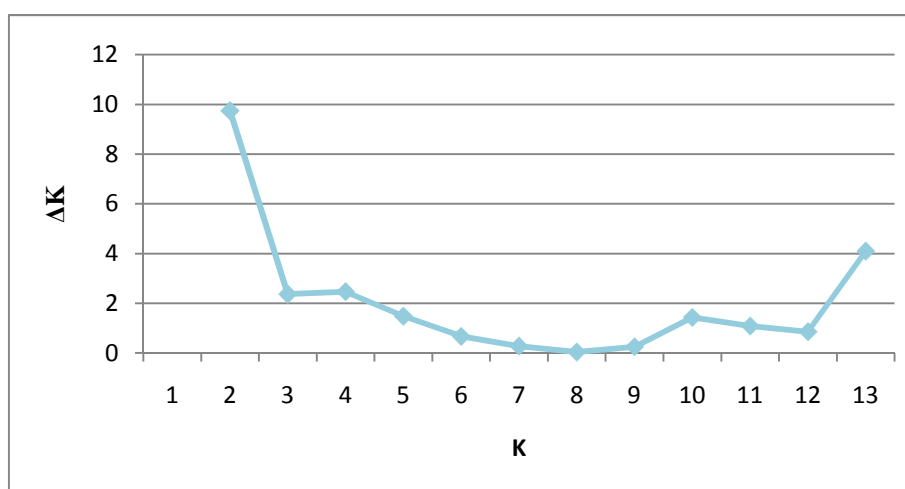


Fig. 10. Estadístico *ad hoc* de Evanno ΔK para cada valor de K , calculado con los datos arrojados en el modelo de mezcla y correlación de frecuencias con información *a priori* de la procedencia de las muestras. Cuyo valor modal de la distribución representa el valor *real* de K o del más alto nivel de estructura

Los F_{ST} linearizados de Slatkin (1995) resultaron en general en valores bajos de diferenciación, presentando valores de cero hasta 0.017, es necesario recalcar que los valores más altos (≥ 0.01) se presentaron en las pruebas entre pares hechas entre CSL y el resto de las localidades. En el árbol obtenido mediante el método UPGMA (Fig. 11) se aprecia que hay dos grupos diferenciados, uno en donde se encuentran las localidades pertenecientes principalmente al Golfo de California (MZ, LP y GY) además de PL y NC, y otro o donde se agrupan las muestras provenientes de varias localidades incluyendo el Pacífico Central y Occidental (HW y JP, respectivamente) además de algunas del Pacífico Oriental no Golfo de California (PM, OC y BM); estos dos grupos resultan diferentes a su vez de PE, el cual se

ancla con EC, estas dos últimas del Pacífico Suroriental, y todos estos resultan bastante diferentes de CSL.

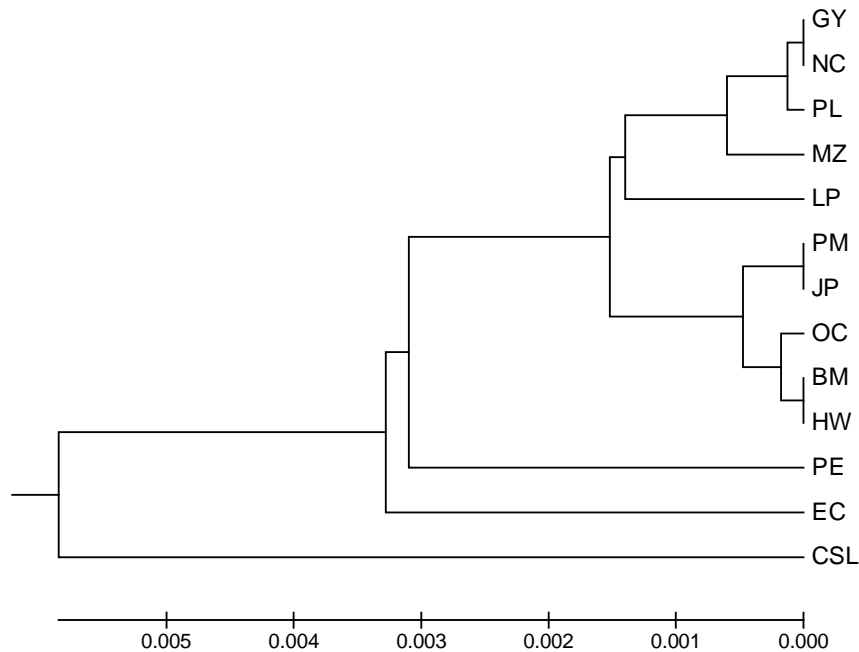


Fig. 11. Árbol obtenido mediante el método UPGMA, realizado con los F_{ST} 's linealizados de Slatkin.

9.2.4 Análisis de aislamiento por distancia

La prueba de Mantel realizada con matrices de distancias entre todo los pares de muestras las cuales se compararon los F_{ST} linealizados de Slatkin (1995) y las distancias geográficas entre estas, medidas en km y en log km, y cuyos resultado fueron coeficientes de correlación negativos y no significativos ($r = -0.00071$ y -0.016 , $p = 0.46$ y 0.52 , respectivamente), este resultado puede ser debido a la ausencia de diferenciación entre localidades distantes, como por ejemplo aquellas del Pacífico Occidental (JP y NC) con las demás.

9.2.5 Estimación de tamaño efectivo poblacional y número de migrantes

En los resultados de la estimación de tamaños efectivos recientes, los valores obtenidos variaron considerablemente tanto entre los dos métodos utilizados: exceso de heterocigotos (EH) y desequilibrio de ligamiento (DL); como entre las localidades (Tabla 7). Bajo el

método de exceso de heterocigotos siete de las trece localidades arrojaron valores de “infinito” (LP, CSL, MZ, PL, PE, EC y HW), otras arrojaron valores medios, mientras que GY, JP y NC resultaron en valores pequeños ($N_e < 19.3$). Por lo cual, se observa que en general, las poblaciones del Pacífico Oriental e incluso la del Pacífico Central presentan tamaños efectivos mayores que las del Pacífico Occidental.

Los valores obtenidos mediante el método DL fueron en general pequeños (< 399) a excepción de EC el cual se calculó como “infinito”, sin embargo, en nueve de los casos los intervalos de confianza del 95% resultaron grandes tendiendo hacia infinito.

Por otro lado, las estimaciones de los tamaños efectivos poblacionales históricos mediante el análisis bayesiano y el cálculo de θ , resultó similar para todas las localidades ($0.0914 > \theta < 0.0978$), lo cual se tradujo en tamaños efectivos poblacionales históricos entre $228.6 > N_e < 244.5$ (Tabla 7), al utilizar una tasa de mutación por generación (μ) para microsatélites igual a 10^{-4} .

Tabla 7. Estimaciones de N_e reciente (método exceso de heterocigotos EH y método desequilibrio de ligamiento DL) e histórico con cinco *loci* microsatelitales en el dorado.

Localidad	Ne estimado reciente			Ne estimado histórico
	EH	DL		
LP	Infinito	70.2	(55.0 - 93.4)	244.1
CSL	Infinito	364.6	(159.1-infinito)	242.2
GY	18	253.6	(92.9 - infinito)	235.0
OC	301.5	110.2	(68.1 - 245.8)	237.8
PM	188.4	3042.9	(412 -infinito)	244.9
MZ	Infinito	398.9	(184.9-infinito)	244.1
PL	Infinito	152.1	(91.6 - 378.6)	242.5
BM	493.4	295.0	(58.6 - infinito)	228.6
PE	Infinito	73.0	(49.4 - 127.8)	240.2
EC	Infinito	Infinito		239.4
JP	19.3	208.2	(82.8 -infinito)	238.4
NC	10.5	296.7	(93.2 - infinito)	236.5
HW	Infinito	1910.2	(309.4-infinito)	244.5
TODAS	Infinito	2198.4	(1435.2-4345.0)	

Entre paréntesis () se encuentra el intervalo de confianza del 95%.

En tres de los casos los estimados históricos de N_e fueron más de dos veces mayores que los estimados por el método DL (LP, OC y PE); en la mayoría de los casos, siete de trece, los estimados resultantes se superpusieron (CSL, GY, MZ, PL, BM, JP y NC), y en tres casos se estimó una mayor N_e reciente (PM, EC y HW).

En la prueba *t-student* en la cual se comparan las estimaciones del N_e histórico con los obtenidos por el método DL y omitiendo en el análisis a EC debido a que las estimaciones generaron valores de infinito, se encontró que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las dos comparaciones ($t = -1.41$, $df = 11$, $p = 0.17$).

Para todas las 156 comparaciones entre proporción de migrantes histórica y reciente, se encontraron diferencias significativas, siendo ésta última mayor en promedio 0.02 veces a la histórica ($t = -4.75$, $df = 155$, $p = 3.15 \times 10^{-6}$), considerando una tasa de mutación 10^{-4} . Los valores de tasa de migrantes reciente oscilaron entre 0.00089 ($m_{GY \rightarrow PM}$) y 0.2881 ($m_{PM \rightarrow OC}$) (Tabla 8^a); y la tasa de migrantes histórica entre 0.00047 ($m_{BM \rightarrow PM}$) y 0.0045 ($m_{PM \rightarrow NC}$) (Tabla 8^b). De igual forma, se encontró incongruencia entre las dos matrices de estimadores de m mediante la prueba de Mantel ($r = 0.008$, $p = 0.44$).

BM presentó la tasa de inmigración neta más alta (suma de flujo génico que entra menos la suma del flujo génico que sale) de acuerdo con los estimados históricos (Nm neto = 5.87) e igualmente de acuerdo a los estimados de flujo génico reciente. Por otro lado, la tasa de emigración neta (suma del flujo génico que sale menos suma del flujo génico que entra) más alta la presentó PM igualmente, mediante los estimados históricos y recientes (Nm neto = -5.82), sugiriendo que esta es actualmente una población de origen importante.

Tabla 8. Matrices bidireccionales de proporción de migración m . a) tasa de migración reciente calculada en BayesAss. b) tasa de migración histórica calculada en MIGRATE.

		DESTINO												
ORIGEN	a)	LP	CSL	GY	OC	PM	MZ	PL	BM	PE	EC	JP	NC	HW
	LP		0.0031	0.0038	0.0244	0.0021	0.0024	0.0034	0.0039	0.0041	0.0034	0.0029	0.0033	0.0027
	CSL	0.0019		0.0031	0.0242	0.0016	0.0019	0.0025	0.0031	0.0026	0.0021	0.0024	0.0028	0.0019
	GY	0.0008	0.0016		0.0235	0.0007	0.0014	0.0018	0.0040	0.0016	0.0014	0.0014	0.0017	0.0011
	OC	0.0016	0.0018	0.0020		0.0013	0.0017	0.0018	0.0032	0.0021	0.0022	0.0017	0.0023	0.0014
	PM	0.0028	0.0030	0.0030	0.0238		0.0026	0.0036	0.0036	0.0033	0.0043	0.0031	0.0045	0.0034
	MZ	0.0020	0.0028	0.0032	0.0245	0.0023		0.0027	0.0040	0.0037	0.0027	0.0029	0.0029	0.0027
	PL	0.0016	0.0021	0.0033	0.0244	0.0013	0.0015		0.0024	0.0023	0.0023	0.0025	0.0023	0.0016
	BM	0.0006	0.0006	0.0010	0.0243	0.0005	0.0008	0.0008		0.0011	0.0010	0.0008	0.0010	0.0009
	PE	0.0013	0.0016	0.0024	0.0229	0.0009	0.0015	0.0018	0.0020		0.0023	0.0017	0.0021	0.0013
	EC	0.0012	0.0019	0.0023	0.0240	0.0012	0.0016	0.0012	0.0043	0.0025		0.0021	0.0025	0.0012
	JP	0.0011	0.0016	0.0019	0.0239	0.0008	0.0013	0.0018	0.0036	0.0021	0.0019		0.0015	0.0011
	NC	0.0013	0.0013	0.0019	0.0238	0.0008	0.0014	0.0014	0.0019	0.0020	0.0021	0.0014		0.0011
	HW	0.0020	0.0024	0.0021	0.0237	0.0023	0.0021	0.0025	0.0035	0.0031	0.0023	0.0028	0.0027	

		DESTINO												
ORIGEN	b)	LP	CSL	GY	OC	PM	MZ	PL	BM	PE	EC	JP	NC	HW
	LP		0.0241	0.0245	0.0117	0.0023	0.0692	0.1176	0.0244	0.1644	0.0840	0.0263	0.1155	0.0768
	CSL	0.0034		0.0043	0.0027	0.0012	0.0023	0.0062	0.0086	0.0048	0.0062	0.0106	0.0054	0.0049
	GY	0.0021	0.0029		0.0022	0.0009	0.0022	0.0033	0.0058	0.0034	0.0027	0.0034	0.0033	0.0036
	OC	0.0016	0.0024	0.0040		0.0027	0.0031	0.0044	0.0062	0.0052	0.0057	0.0027	0.0038	0.0043
	PM	0.1495	0.2011	0.2600	0.2881		0.2275	0.1252	0.2233	0.0866	0.1722	0.2407	0.1667	0.1816
	MZ	0.0044	0.0038	0.0040	0.0031	0.0029		0.0201	0.0070	0.0171	0.0173	0.0057	0.0060	0.0147
	PL	0.0021	0.0027	0.0037	0.0023	0.0011	0.0028		0.0072	0.0047	0.0053	0.0094	0.0039	0.0096
	BM	0.0014	0.0019	0.0028	0.0020	0.0010	0.0021	0.0026		0.0032	0.0027	0.0028	0.0031	0.0021
	PE	0.0019	0.0023	0.0044	0.0033	0.0048	0.0030	0.0078	0.0079		0.0044	0.0036	0.0048	0.0045
	EC	0.0014	0.0031	0.0042	0.0028	0.0020	0.0034	0.0060	0.0083	0.0063		0.0037	0.0038	0.0056
	JP	0.0017	0.0028	0.0036	0.0022	0.0016	0.0027	0.0051	0.0055	0.0036	0.0033		0.0039	0.0050
	NC	0.0016	0.0026	0.0036	0.0026	0.0020	0.0025	0.0043	0.0062	0.0048	0.0034	0.0033		0.0043
	HW	0.0021	0.0047	0.0043	0.0032	0.0031	0.0032	0.0070	0.0074	0.0055	0.0051	0.0042	0.0050	

X. Discusión

El análisis de los cinco *loci* microstelitales permitieron identificar algunos patrones genéticos de *C. hippurus* en el Océano Pacífico, con especial énfasis del Pacífico Oriental. Se amplificaron un total de 720 individuos, obteniendo un éxito mayor al 97.7% para cada *locus*.

10.1 *Diversidad genética y equilibrio de Hardy-Weinberg*

Dado el alto polimorfismo de los *loci*, se logró obtener un amplio rango alélico en cada una de las poblaciones analizadas, encontrando un promedio general de 12.6 alelos, cuyo valor coincide con el rango reportado por Tripp-Valdez (2010). El nivel de polimorfismo observado puede ser atribuido a que los microsatélites de patrón dinucleotídico presentan altas tasas de mutación, incluso mayores que aquellos tetranucleotídicos, lo cual resulta en marcadores más variables (Schlöterer & Tautz, 1992; Chakraborty *et al.* 1997; Lee *et al.* 1999; Schlöterer, 2000). De igual forma, se ha observado que peces y organismos poiquilotérmicos en general presentan mayores rangos alélicos comparados con otros mamíferos, lo anterior atribuido a la alta variación de temperatura experimentada, la cual puede incrementar la tasa de mutación por la ADN polimerasa en *loci* microsatelitales, generando sistemas con amplios rangos alélicos (Brooke, 1994). Sin embargo, otros autores han indagado esta hipótesis, concluyendo que el amplio rango alélico de marcadores dinucleotídicos y número de alelos es debido básicamente a que los microsatélites con gran número de repeticiones (largos) presentan mayor probabilidad de mutar, y estos últimos son comunes en peces (Neff, 2001).

Se encontraron valores de heterocigosidades observadas y esperadas altos, con un promedio de 0.83 para cada una, valor que se encuentra dentro del rango encontrado para la especie en poblaciones del Golfo de California ($H_o = 0.86$ y $H_e = 0.83$) (Tripp-Valdez *et al.*, 2010) y además coincide con los valores reportados para microsatélites en otras especies pelágicas marinas como el Patudo *Thunnus obesus* ($H_o = 0.742$ y $H_e = 0.901$) (Appleyard *et al.*, 2001; Gonzales *et al.*, 2008), el atún aleta azul *Thunnus thynnus thynnus* ($H_o = 0.929$ y $H_e = 0.935$) (Carlsson *et al.*, 2004). DeWoody y Avise (2000) demostraron que las especies de peces

marinas presentan mayor variación microsateletal comparada con peces de agua dulce, lo cual es consistente con el incremento evolutivo de los tamaños efectivos poblacionales.

En un análisis más detallado de los valores de diversidad genética, se encontró que los valores más altos en cuanto a número de alelos, riqueza alélica, heterocigosis esperada, así como mayor frecuencia de alelos privados fue HW (14.8, 10.719, 0.845, respectivamente) (Fig. 12), lo que se confirma con el resultado del análisis realizado con el software HP-Rare (Kalinowski, 2005) donde se encontró que HW es la localidad con mayor riqueza alélica de alelos privados (0.31). Hawái ha sido propuesta como zona de reproducción durante épocas de primavera (abril) y otoño (octubre), en donde llegan individuos del Océano abierto y comienzan una actividad reproductiva intensa y luego retornan al Océano abierto recuperando su condición en un período no reproductivo para que luego regresen de nuevo a desovar a las costas Hawaianas, sugiriendo que realizan movimientos de cerca de 1100 km hacia el norte en épocas no reproductivas (Uchiyama, 2004). Lo anterior propone que Hawái es una localidad importante donde se pueden cruzar individuos de diferentes procedencias con intensa actividad reproductiva en ciertas épocas del año, lo cual se ve reflejado en los índices de diversidad obtenidos.

Por otro lado, los valores más bajos de diversidad obtenidos, hablando en términos de riqueza alélica (9.126) y número efectivo de alelos (5.9) la presentó la localidad de JP (Fig. 12). La presencia de alelos privados en tan solo algunas poblaciones GY, PM, MZ, EC y HW, nos indica que la deriva génica no es suficientemente efectiva en su labor de fijar alelos, no es la principal fuerza evolutiva que actúa en las poblaciones de dorado, dada la magnitud del tamaño poblacional de esta especie.

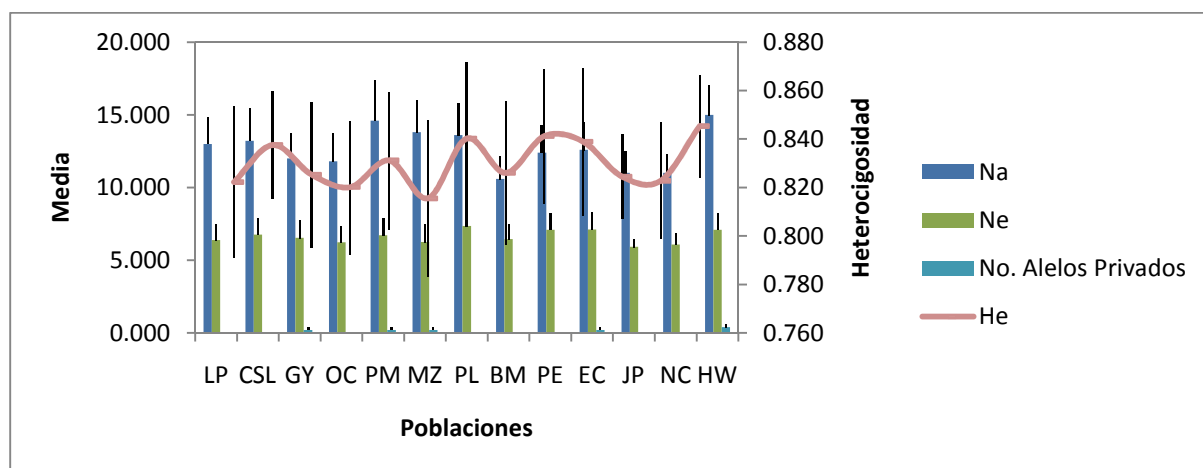


Fig. 12 Gráfica de los patrones alélicos y la heterocigosidad media para cada una de las poblaciones.

En el análisis a las desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg trece de las sesenta y cinco pruebas realizadas resultaron significativas, de las cuales diez son explicadas por un déficit de heterocigotos (incluidas aquellas que pueden ser efecto de presencia de alelos nulos). Estos resultados son similares a los presentados para algunas especies pelágicas (Appleyard *et al.*, 2001; Carlsson *et al.*, 2004; Kotoulas *et al.*, 2006; Díaz-Jaimes & Uribe-Alcocer, 2006; Gonzales *et al.*, 2008) y son atribuidos además de la presencia de alelos nulos, a una posible subestructura poblacional (Kotoulas *et al.*, 2006), o a sesgos en el muestreo de alelos debido a la sobre representación de algunos de estos.

La mayoría de poblaciones naturales se desvían en cierto grado de la condición ideal de apareamiento aleatorio en aquellas especies cuyo rango de distribución excede la distancia que recorre un individuo en su período de vida por lo cual es improbable que el entrecruzamiento sea aleatorio. Por lo anterior, una especie con migración restringida parecerá presentar eventos endogámicos porque hay mas homocigotos de los esperados bajo la suposición de apareamiento al azar, condición conocida como efecto Wahlund (Gillespie, 1998). Estos efectos han sido asociados a áreas de desove o crianza como se ha reportado en *Thunnus obesus*, *Thunnus thynnus* y *Negaprion brevirostris* (Gonzales *et al.*, 2008; Carlsson *et al.*, 2004; Feldheim *et al.*, 2001).

Hay algunas evidencias que nos indican que ésta hipótesis no es plausible para el caso del dorado. Primero porque no se observa congruencia entre todos los *loci* para los casos de las localidades en donde se reportó un déficit significativo de heterocigotos, por lo cual no se pueden atribuir estos resultados al sistema de apareamiento (endogamia o exogamia) ni a una posible subestructuración poblacional que origina un efecto Wahlund. Y segundo, aunque se han identificado áreas de mayor actividad de desove asociadas principalmente a la estación en coincidencia con los picos de máxima captura (estacionalidad del recurso) (Zuñiga- Flores *et al.*, 2008); también existe evidencia de un desove continuo por largos períodos (Oxenford, 1999) por lo cual no se tienen las herramientas para indicar la existencia de áreas de desove para el dorado, como si se ha hecho para las especies anteriormente descritas (*Thunnus obesus*, *Thunnus thynnus* y *Negaprion brevirostris*) y para las que se ha reportado un efecto Wahlund.

Sin embargo, es factible la ocurrencia de diferencias en las frecuencias alélicas entre cohortes, lo anterior lo afirmamos debido a las observaciones que se han hecho sobre el hábito agregado del dorado, tienden a formar cardúmenes de individuos de la misma clase de edad, por lo cual la hipótesis de un efecto Wahlund no puede ser desechada por completo.

10.2 *Estructura poblacional en el Océano Pacífico*

Para evaluar los patrones genético-poblacionales del dorado se abordaron diferentes metodologías. Las simulaciones utilizadas con varias combinaciones de tamaños efectivos poblacionales (N_e) y tiempos de divergencia (t) demostraron que los loci en estudio proveen el poder estadístico suficiente para detectar variabilidad genética en el dorado, aunque presenta complicaciones cuando los valores de diferenciación son muy bajos ($F_{ST} \leq 0.001$).

En el análisis temporal de la variación de las frecuencias alélicas para aquellas localidades con las que se contaba con más de un año de colecta, se observó que una vez realizada la prueba exacta de diferenciación contemplando todas las poblaciones no se encuentra diferencias ni entre muestreos temporales ni espaciales. Sin embargo, cuando las comparaciones en frecuencias génicas y genotípicas se hacen entre pares de muestreos temporales (sin tener en cuenta las demás localidades) se obtiene que CSL 2003-2006 y MZ 2003-2004 presentan valores de diferenciación altamente significativos ($p < 0.023$). De igual forma, Tripp-Valdez (2010) encontró heterogeneidad genética entre muestras temporales de la localidad de Loreto ubicada dentro del Golfo de California.

Hedgecock (1994a) sugirió que en algunos organismos marinos incluidos los peces, pueden existir altas tasas de fecundidad y altas tasas de mortalidad en etapas tempranas del ciclo de vida, sugiriendo también que para un año dado la mayoría de los jóvenes reclutados pueden descender de un número reducido de progenitores debido a una sobrevivencia diferenciada de gametos y/o larvas resultado de diferencias en las condiciones oceanográficas y de nutrientes, entre zonas próximas. Lo anterior propicia que las poblaciones no se dispersen en el ambiente marino de forma aleatoria, por tano hay una co-ocurrencia en espacio y tiempo de individuos relacionados. Bajo este escenario es necesario recalcar que los fenotipos favorecidos en el ambiente marino pueden variar frecuentemente entre generaciones (Waples, 2002), lo anterior explicado porque los procesos océanográficos y las condiciones que afectan

la reproducción de animales marinos varían no solamente entre años sino también dentro y entre estaciones (Hedgecock, 1994b). Los resultados de un análisis temporal de las frecuencias alélicas pueden develar diferencias debidas a la variación del éxito reproductivo y/o supervivencia de ciertas familias y/o cohortes, no obstante dichas diferencias no necesariamente se traducen en divergencia genética por lo que es factible descartarlas para fines de análisis posteriores.

Los tiempos generacionales del dorado son cortos (menor de dos años; Oxenford, 1999), y los tamaños expresados en LF de los individuos colectados y de los cuales se tienen las tallas (CSL06, \overline{LF} = 83.2 cm; MZ03, \overline{LF} = 69.6 cm) reflejan que los individuos son adultos posiblemente de más de una año de edad (Sakamoto & Kojima, 1999). Por lo cual, en el presente análisis se pueden estar comparando generaciones cohortes distintos sobre todo en CSL dado que existen tres años de diferencia entre los tiempos de colecta, lo que hace factible observar dichas diferencias producto de la variación del éxito reproductivo. Sin embargo se debe ser precavido al sustentar este tipo de conclusiones ya que no se tiene certeza acerca de cuáles son los factores físicos y/o biológicos que estén originando estas diferencias temporales de las frecuencias alélicas en estas localidades, y por qué estos no persisten en otras localidades donde no se encontraron diferencias temporales.

Con respecto a la varianza de las frecuencias en el componente espacial, se calculó un valor de diferenciación global F_{ST} = 0.0058 (p = 0.000) el cual es similar al estimado para otra especies similares en una escala intraoceánicas como el Pez Espada *Xiphias gladius* ($0.0011 \leq F_{ST} \leq 0.04$), Patudo *Thunnus obesus* (F_{ST} = 0.002), Atún aleta azul *Thunnus thynnus thynnus* (F_{ST} = 0.002) y el atún aleta amarilla *Thunnus albacares* (F_{ST} = 0.002) (Kotoulas *et al.*, 2006; Appleyard *et al.*, 2002; Carlsson *et al.*, 2004; Appleyard *et al.*, 2001, respectivamente). Sin embargo, se encuentra por debajo de los valores estimados para otras especies marinas, F_{ST} = 0.062 (Ward *et al.*, 1994; Waples, 1998) e incluso algo menor que el reportado para la especie en poblaciones del Golfo de California, el cual fue de 0.01 y de igual forma significativo (p = 0.000) (Tripp-Váldez *et al.*, 2010). Lo cual sugiere una sutil estructuración de las poblaciones en el Océano Pacífico. Al parecer, este tipo de fenómenos es recurrente en especies pelágicas que muestran desove masivo y una tasa de sobrevivencia baja en relación a la magnitud del desove, en un amplio rango espacial, por lo que resulta preciso una interpretación cautelosa de los niveles de diferenciación genética de forma tal que sean considerados estos inconvenientes.

En el análisis jerárquico AMOVA, en ninguna de las tres pruebas de diferenciación latitudinal y longitudinal se alcanzó significancia de los valores de variación entre los grupos y el intervalo de confianza de los valores de F_{CT} incluyen el cero ($-0.00058 \geq F_{CT} \leq 0.00017$). De la misma forma, en el software SAMOVA, al querer evidenciar cuando la varianza entre los grupos es maximizada se obtienen valores de 10 a 12 poblaciones. Pesé a esto, ya que el programa utiliza las coordenadas geográficas para establecer agrupaciones naturales, es decir, agrupa localidades geográfica y genéticamente similares, no tiene en cuenta la presencia de barreras entre poblaciones cercanas como lo puede representar la Península de California. De esta forma, el agrupamiento de GY y BM no necesariamente es la más *natural*. Éste resultado también puede ser producto de la alta variación de los individuos con respecto a las poblaciones ($F_{IS} = 0.0137$, $p = 0.025$), por lo cual estima que la máxima partición de la varianza corresponde con el máximo número de grupos que se pueden generar a partir de nuestros datos.

De esta forma, la reexaminación de las estimaciones pareadas entre muestras se hace necesaria en busca de un patrón de divergencia. Al observar los patrones relevantes en la prueba de F_{ST} pareada donde al parecer las poblaciones más disimiles son aquellas del Golfo de California, Pacífico Sur Oriental y Pacífico Central ($\alpha=0.05$). Por lo cual, se diseñaron varios AMOVA, dónde se omitieron las poblaciones que introducen mayor a varianza CSL06 y MZ04.

En el primero se realizó un análisis con las siguientes cinco agrupaciones, Golfo de California (LP, CSL, GY y MZ), Pacífico Nororiental no Golfo de California (OC, PL, BM y PM), PE, EC, y Pacífico centro-occidental (HW, JP y NC), agrupación soportada por el árbol de distancias genéticas obtenido mediante el método UPGMA (Fig. 11), y en el cuál se obtuvieron resultados interesantes dado que revelan una diferenciación significativa entre los grupos ($F_{CT} = 0.0028$, $p = 0.003$). De igual forma, Tripp-Váldez y colaboradores (2010) diseñaron un AMOVA en el cual agrupó aquellas muestras procedentes del Golfo de California (Loreto, CSL, GY, LP y MZ) y las comparó con muestras procedentes también del Golfo pero otras procedentes del Pacífico mexicano no Golfo de California y obtuvo resultados significativos de diferencia entre los grupos ($F_{CT} = 0.01$, $p = 0.000$). Estos resultados nos sugieren de manera reiterativa que las localidades presentes en el Golfo de California pueden representar unidades discretas genéticamente.

El segundo análisis, fue hecho considerando los resultados obtenidos anteriormente, además de una estructuración de acuerdo a las provincias que conforman la región biogeográfica del Pacífico Tropical Oriental (PTO) (Hastings, 2000). La PTO se ha considerado como modelo para examinar como discontinuidades del hábitat afecta la distribución de peces marinos (Craig *et al.*, 2006), y cuyas provincias están interrumpidas por largas extensiones de arena, formando así la provincia de Cortez, la provincia Mexicana y la provincia Panamá (Fig. 13). Estas barreras pueden representar ambientes que limita el movimiento de adultos y /o larvas debido a la distancia que deben viajar para encontrar ambientes propicios (Craig *et al.*, 2006). Por lo cual para el AMOVase estructuraron siete grupos: Provincia de Cortez (CSL, LP, GY y MZ), Provincia Mexicana (PM), Provincia Panamá (EC y PE); y las demás muestra se agruparon como, Barrera del Pacífico Oriental, que se refiere a la extensión de mar abierto que separa a la PTO del Pacífico central (OC, PL y BM); Pacífico Central (HW); Pacífico Noroccidental (JP) y Pacífico Suroccidental (NC). Los resultados obtenidos muestran una diferenciación pequeña pero significativa entre los grupos ($F_{CT} = 0.002$, $p = 0.05$).

De igual forma, al avocarnos a la región Pacífico Oriental debido al esfuerzo de muestro en la que se tiene en la misma y reconociendo que la señal de diferenciación puede estar siendo encubierta por homoplasias, es decir electroformas idénticas por estado mas no necesariamente idénticas por descendencia ocasionadas por mutaciones convergentes (Estoup *et al.*, 2002), que hacen que las frecuencias genéticas entre regiones distantes no sean heterogeneas. Realizamos otro AMOVA considerando: Provincia Cortez (LP, CSL, GY y MZ), Provincia Mexicana (PM), Provincia Panamá (EC y PE) y Barrera del Pacífico Oriental (OC, PL, y BM); encontrando una señal pequeña de diferenciación significativa entre los grupos ($F_{CT} = 0.002$, $p = 0.039$). Resultado que es respaldado por la prueba de Mantel de aislamiento por distancia exclusiva para el Pacífico Oriental y la cual resultó significativa ($r = 0.4$, $p = 0.04$).

Esta heterogeneidad genética puede estar atribuida a fidelidad de sitios de agregación, a que pese que se ha descrito que el dorado es una especie con alta capacidad migratorio los estudios realizados de captura y recaptura han evidenciado que el porcentaje de individuos que se alejan de su área de captura es muy bajo, así como la distancia máxima de desplazamiento ha sido de 440km. Por otro lado, el factor ambiental, en particular la temperatura superficial del agua, puede jugar un papel importante al momento de restringir la dispersión de los adultos.

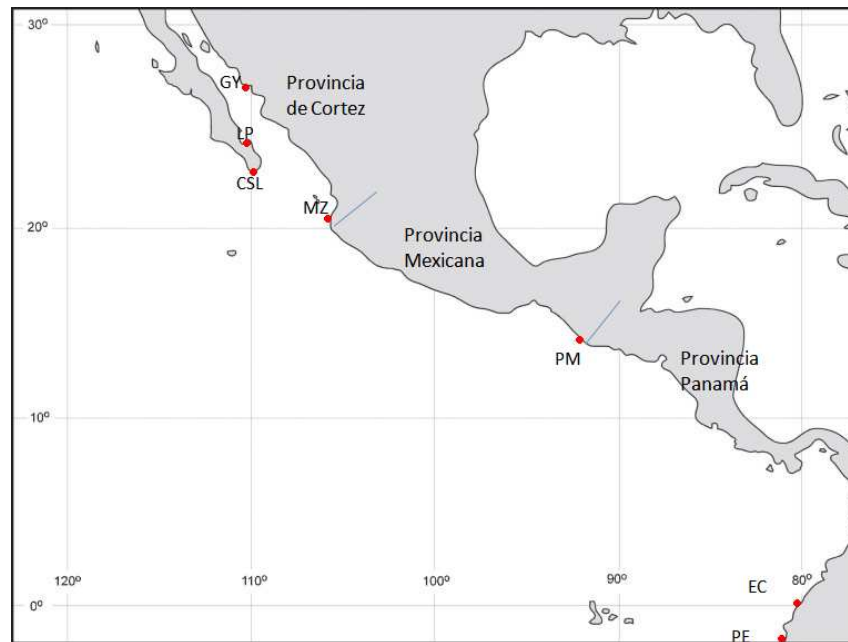


Fig. 13. Región Biogeográfica del Pacífico Tropical Oriental (PTO) en donde se indican las tres principales provincias y sus límites. En puntos rojos se señalan las localidades muestra que pertenecen a alguna provincia.

Contrariamente, en el análisis bayesiano sin información *a priori* no se encontró una señal de estructura poblacional evidente en el Océano Pacífico, ni por el método del $\log P(D)$, ni mediante la estimación del estadístico *ad hoc* de Evanno (Fig. 7 y Fig.8), datos que son corroborados por la prueba de aislamiento por distancia de Mantel de la cuenca oceánica, la cual sugiere que al aceptar la hipótesis de que todos los individuos muestreados en el Océano Pacífico corresponden a una sola población, el modelo de diferenciación intrapoblacional es diferente a un modelo de aislamiento por distancia. Sin embargo, es importante recalcar que la correcta detección del número de grupos por STRUCTURE está relacionada con la intensidad del muestreo y el marcador a utilizar, debido a que un muestreo parcial de los individuos conlleva a un menor valor de ΔK en la K real (Evanno *et al.*, 2005); además aunque se ha reportado que STRUCTURE presenta un buen desempeño con niveles de diferenciación bajos (Rosenberg *et al.*, 2002), se ha indicado que a niveles de diferenciación ≤ 0.02 el programa reduce su eficiencia y se pueden obtener estimaciones erróneas (Latch *et al.*, 2006).

El uso del estadístico *ad hoc* de Evanno es de ayuda para identificar el número correcto de *clusters* en algunas situaciones, pero no debe ser utilizado siempre. Dado que ΔK no puede detectar la mejor K si $K=1$. Aunque en nuestros datos se identifica que Evanno detecta que el

número *real* de grupos son dos, al aplicar algunos métodos de representación gráfica implementados por el software Distruct 1.1. (Rosenberg, 2004) el cual usa los “coeficientes de membresía” de la matriz de Q arrojada por STRUCTURE cuando $K=2$, se observa un patrón de mezcla sin clara definición de *clusters* (los datos no se muestran).

Por lo que como conclusión para el análisis Bayesiano realizado en muestras colectadas en el Océano Pacífico, es que todas pertenecen y conforman una misma unidad panmictica y debe ser considerada como un solo *stock* de pesca. Resultados similares han sido reportados para el mismo Océano en especies pelágicas semejantes como lo son el Marlin Azul *Makaira mazara*, Marlin Negro *Makaira indica* (Graves & McDowell, 2003), Patudo *Thunnus obesus* (Gonzalez *et al.*, 2008) Atún aleta amarilla *Thunnus albacares* y Barrilete *Katsuwonus pelamis* (Ely *et al.*, 2005); y los cuales han sido atribuidos principalmente a los grandes tamaños efectivos poblacionales, por lo cual la deriva genética no es la principal fuerza evolutiva que moldea las poblaciones.

Adicionalmente, algunos trabajos que han investigado la homogeneidad espacial y temporal de la especie en diferentes puntos dentro del Océano Pacífico concuerdan al concluir que no hay una señal de estructura o divergencia entre/dentro de localidades del Océano Pacífico (Díaz-Jaimes *et al.*, 2006; Díaz-Jaimes *et al.*, 2010; Tripp-Váldez *et al.*, 2010) y cuyos resultados son atribuidos a alta actividad migratoria y alta capacidad reproductiva.

La anterior conclusión resulta contradictoria a los resultados de las metodologías anteriormente utilizadas (F_{ST} 's y AMOVAS), en las que en general, hay una señal de diferenciación pequeña pero significativa, indicando un leve grado de estructuración poblacional para el Océano Pacífico y por la cual se recomienda, según los resultados del AMOVA, cuatro *stocks* poblacionales para el Pacífico Oriental que concuerdan con las provincias de la región biogeográfica del PTO, más la Barrera del Pacífico Oriental; y grupos independientes: Pacífico central, Pacífico noroccidental y Pacífico suroccidental. La estructuración dentro de los Océanos ha sido reportada para otras especies, incluyendo la Albacora *Thunnus alalunga* (Chow & Ushima, 1995), Pez Vela *Istiophorus platypterus* y Marlin Rayado *Tretapturus audax* (Graves & McDowell, 2003), la cual ha sido atribuida principalmente a la existencia de sitios de desove. Asimismo, en el dorado, Rocha y colaboradores (2006) encontraron una señal de diferenciación mediante marcadores mitocondriales de individuos provenientes de Hawái y el Pacífico Mexicano ($\Phi_{ST} = 0.029$, $p = 0.004$), lo cual resulta consistente con nuestros datos.

No obstante, la conclusión anterior debe ser tomada con precaución considerando la interpretación de Waples (1998) en el sentido de que no todas las pruebas significativas estadísticamente indican diferencias biológicas importantes. De hecho, con los suficientes datos, se espera que existan diferencias significativas cuando se comparan muestras geográficas debido a que generalmente ocurren desviaciones a la panmixia. En este caso, las directrices para manejo de los recursos se basarían solamente en las diferencias estadísticamente significativas entre *stocks* y serían manejados como tal, cuando no existe una base biológica robusta para esto. Aunque este tipo de errores generalmente conlleva a una aproximación conservadora para el manejo del recurso, pueden tener impactos económicos, sociales y políticos fuertes que representan un costo para la sociedad.

En nuestro caso los valores de F_{ST} y F_{CT} son en general bastante pequeños, casi cercanos a cero. Posiblemente algunas características biológicas del dorado como su alta capacidad migratoria y potencial de dispersión (Gibbs & Collette, 1959; Beardsley, 1967; Oxenford, 1999; Kingford & Defries, 1999) tanto de adultos como de larvas y, considerando que el alcanzar el estado juvenil significa un tiempo de desarrollo en estado meroplanctónico cercano a 50 días (Massutí, 1999), hace suponer que este tiempo es suficientemente largo para permitir un amplio desplazamiento (Sánchez-Izquierdo, 2009); Aunado a lo anterior, la alta fecundidad, los largos y constantes períodos de desove (Oxenford, 1999; Wu *et al.*, 2001), el gran número de huevos que se producen en cada ocasión de desove (250.000) (Nel, 1995), así como el alto número de desovantes (Massuti, 1999), son características de especies con tamaños poblacionales altos que pueden limitar la acción de la deriva génica y por lo tanto limitar la diferenciación de las frecuencias alélicas. De manera adicional, el comportamiento reproductivo asociado a la temperatura superficial del agua (Gibbs y Collette, 1959; Zúñiga-Flores *et al.*, 2008) más que al sitio geográfico apuntan a la inexistencia de zonas de desove, características de aquellas especies pelágicas que presentan algún grado de estructura genética como por ejemplo el pez espada *Xiphias gladius* y el atún aleta azul *Thunnus thynnus thynnus*,

En este contexto, las características reunidas en el párrafo anterior demuestran la necesidad de realizar análisis más profundos para no caer en conclusiones erróneas que nos lleven a un inadecuado manejo de las poblaciones y de la especie en general.

10.3 *Tamaño efectivo poblacional y flujo génico*

No se encontraron diferencias significativas entre los estimados históricos y recientes de los tamaños efectivos poblacionales, lo cual es un indicador de estabilidad demográfica de la población. Los valores calculados, tanto recientes como históricos, a excepción de aquellos obtenidos mediante el método de EH, los cuales en su mayoría resultaron “infinito”, fueron en general pequeños e incluso se encuentran por debajo de los estimados para la especie en localidades del Golfo de México y aguas adyacentes, donde $1.05 \leq \theta \leq 3.97$, lo cual conlleva a N_e entre 2625 y 9925 (Tripp-Váldez *et al.*, 2010).

El patrón encontrado por el método DL, donde estima que existen mayores tamaños efectivos en las localidades del Pacífico Oriental, es concordante con lo reportado por los datos de captura de las pesquerías. La Comisión Interamericana Tropical para el Atún reportó en el 2006 capturas anuales de hasta 22000 tm en el año 2001 (IUCN, 2010).

Con los datos obtenidos, se observa una marcada diferencia en las proporciones de tamaños efectivos poblacionales y los tamaños censuales (derivados de los datos de captura anuales: aproximadamente un promedio de 24123.5 toneladas métricas para el dorado en el Pacífico) (Tabla 9) la cual es común en peces marinos (Frankham, 1995; Gonzalez *et al.*, 2008) y pueden ser explicados o por eventos históricos tales como, cuellos de botella en poblaciones pasadas o, por características de la historia de vida como fuertes desviaciones del éxito reproductivo o fecundidad tamaño-dependiente.

Como se mencionó al principio de esta sección, al no encontrar diferencias de los tamaños efectivos estimados recientes e históricos se puede descartar la posibilidad de un cuello de botella reciente. Por otro lado, con respecto a las características reproductivas, en el dorado se ha reportado que la fecundidad está fuertemente influenciada por el tamaño del pez (Oxenford, 1999; Wu *et al.*, 2001); además, como se menciona en el apartado [10.1] es factible que *C. hippurus* presente una variación en el éxito reproductivo, que de igual forma explica las diferencias en muestreos temporales que se obtienen en algunas localidades como ha sido reportado para otras especies como el *Thunnus obesus* (Gonzalez *et al.*, 2008) y *Pagrus auratus* (Hauser *et al.*, 2002).

Tabla 9. Reporte en toneladas métricas (tm) anuales promedio capturadas en cada país.

	Período de estudio	Tm	Referencia
México	1993-2005	6331.7	Martínez-Rincón, 2008
Ecuador	1989-2007	7423.2	Peralta, 2006
Japón	1964-1987	9962.0	Sakamoto & Kojima, 1999
Hawái	1987-1996	375	Kraul, 1999
Australia	1992-1996	31.6	Kingsford & Defries, 1999
TOTAL		24123.5	

La comparación entre las proporciones de migrantes histórica y reciente sugiere que el flujo génico ha incrementado entre las localidades de estudio. Sin embargo esta discrepancia puede ser resultado de las diferentes asunciones de los dos métodos utilizados. Los estimados recientes calculados en BayesAss no asumen un equilibrio migración-deriva ni tasas de migración constantes. Adicionalmente, MIGRATE asume que los datos microsatelitales se ajustan al model mutacional paso a paso, mientras que BayessAss no tiene este supuesto. Sin embargo, no se puede descontar la posibilidad de que los resultados estén influenciados por una diferencia real.

Al igual como ocurrió con los estimados de N_e , los estimados de m arrojaron valores pequeños, de nuevo por debajo de los reportados por Tripp-Váldez (2010) los cuales se encontraron entre 0.06 y 4.04. El flujo génico entre las muestras es asimétrico y complejo. La ruta migracional de la especie puede estar asociada a las corrientes oceánicas superficiales. En la región del Pacífico Oriental, la distribución tropical de *C. hippurus* tiene dos zonas de mezcla de aguas tropicales y templadas. En el norte está la Corriente de California y en el sur la Corriente Humboldt. Durante los primeros meses del año (hasta abril), la contracorriente ecuatorial avanza hacia el sur, permitiendo la intrusión de aguas de la Corriente de California y la Corriente de Perú (Lasso y Zapata, 1999).

10.4 *Implicaciones para el manejo y la conservación*

La conservación de los organismos es una empresa desafiante por varias razones, principalmente porque el hábitat es inmenso y presenta dificultades para la observación estudio, y colecta de especies marinas. Sin embargo, es de preocupación que los organismos acuáticos sean las especies más explotadas en sus ambientes silvestres para consumo humano (Ryman *et al.*, 1995).

La captura por parte de las pesquerías mundiales se ha mantenido estable entre 90 a 100 millones de toneladas mientras que los reportes de sobre-explotación de *stock* comercialmente importantes han proliferado (FAO, 2004). Por su parte, la comunidad científica hace un esfuerzo progresivo para hacer una evaluación *stock* por *stock*, guiada hacia un acercamiento integral que incluya varios componentes del ecosistema marino (Fromentin *et al.*, 2009).

El manejo adecuado de *stocks* de peces requiere del conocimiento y entendimiento de los patrones de conexión (Burton, 2009) de forma tal que se optimicen las estrategias y se diseñen e implementen operativos para proteger las características genéticas y diversidad de los *stocks* existentes y de esta forma mantener su productividad y potencial evolutivo (Shaklee & Bentzen, 1998). Para esto, los estudios en genética molecular de poblaciones naturales con marcadores moleculares, ofrecen la posibilidad de investigar la estructura poblacional y proveer datos científicos para la regulación de la captura y hacer un manejo ideal de los recursos (Ward, 2000; Çiftci & Okumuş, 2002).

Para el caso de *C. hippurus*, especie catalogada por la *International Union for Conservation of Nature*- IUCN como especie de menor preocupación, y cuya captura global ha incrementado gradualmente según reportes de la FAO desde 1961 hasta el 2006, desde 17000 tm hasta un máximo pico de 59000 tm en 2005. Es imperante el investigar cual es el estado de los *stocks*, ya que según reportes de algunos pescadores se han presentado declines en las tasas de captura, especialmente en Costa Rica y Ecuador (www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/154712/0).

En el Océano Atlántico existe evidencia sobre la existencia de múltiples poblaciones basada en datos morfológicos y moleculares (Oxenford & Hunt, 1986). Por lo cual la *Caribbean*

Regional Fisheries Mechanism reconoció la incertidumbre sobre la estructura de los *stocks* y en el 2006 condujo dos análisis, uno reconociendo un *stock* norte y un *stock* sur, y otro combinando los dos. La conclusión general, es que no hubo cambio en las unidades de esfuerzo de captura en ninguno de los dos experimentos, por lo cual resaltan la necesidad de que los países generen datos sobre los *stocks*.

Para el caso del Océano Pacífico, este representa el primer trabajo en el cual se estudia un número considerable de localidades ampliamente distribuidas, con marcadores hipervariables que brindan información contemporánea sobre la conectividad genética en el Océano Pacífico, así como de estimaciones de los tamaños efectivos poblacionales y proporción de migrantes. El cual se incita sirva de base para los países y entidades competentes en la toma de decisiones relacionadas con el adecuado manejo del recurso.

Es necesario resaltar, la necesidad del uso de un mayor número de *loci* microsatelitales, en conjunto con otros marcadores con diferentes tasas de mutación y tipo de herencia, como lo es el ADN mitocondrial. Además de contar con muestreos con un rango de cobertura mayor y tamaños muestrales más grandes, así como análisis temporales de los mimos, permitirá un acercamiento más completo y contundente sobre el estado y la estructura poblacional que guiara a conclusiones más certeras y a afianzar proyectos de manejo y conservación.

XI. Conclusiones

- La variabilidad genética presente en las poblaciones del Océano Pacífico es alta lo cual es un indicativo de la salud genética de la población.
- Se observó para algunas localidades diferencia en las frecuencias genéticas entre muestreos temporales, las cuales son atribuidas principalmente a la variación del éxito reproductivo y de sobrevivencia, lo cual fue constatado por la proporción N_e/N .
- Mediante la estimación de estadísticos de divergencia obtuvimos que existe heterogeneidad en las frecuencias genéticas entre localidades presentes en el Océano Pacífico.
- Se obtuvo concordancia entre los análisis realizados de diferenciación poblacional cuando las muestras fueron particionadas de acuerdo a las provincias y regiones biogeográficas del Pacífico, con especial énfasis en el Pacífico Oriental.
- Los resultados expuestos en este documento brindan una plataforma para la delineación de estrategias de manejo sustentable del recurso. De tal forma, que al ser consideradas por las instituciones competentes y por los gremios donde se explota el recurso se vele por conservar sus tamaños poblacionales, su diversidad genética e incluso el ambiente que lo posee.
- Es recomendable realizar estudios más extensivos que incorporen un mayor número de muestras y marcadores, así como implementar estudios de monitoreo que vigilen la adecuada implementación de los planes e identifiquen cambios súbitos de las características poblacionales.
- Se debe prestar atención en aquellas localidades donde el recurso no es tan abundante, ya que la tasa de entrada de individuos por migración puede llegar a ser menor que la tasa de captura de los mismos y se puede desatar un extinción local de un fragmento de la población

XII. Referencias Bibliográficas

- AMEZCUA GOMEZ, CARLOS ALBERTO. 2007. Relaciones tróficas entre el pez vela (*Istiophorus platypterus*) y el dorado (*Coryphaena hippurus*) en la costa de los estados de Jalisco y Colima, México. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias- CICIMAR- INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL.
- AGUILAR-PALOMINO, B., F. GALVÁN-MAGAÑA, L.A. ABITIA-CÁRDENAS, A.F. MUHLIA-MELO & J. RODRÍGUEZ-ROMERO. 1998. Aspectos alimentarios del Dorado *Coryphaena hippurus* Linneaus, 1758 en Cabo San Lucas, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas*. 24(3): 253-265.
- ALEJO-PLATA, M.C., G. CERDENARES. & G. GONZÁLEZ-MEDINA. 2004. Caracterización biológica del dorado *Coryphaena hippurus*, capturado en las costa de Oaxaca, México. En: Libro de Resúmenes, Evaluación de Recursos Pesqueros. COATFISH 2004.
- APPELYARD, S.A., R.D. WARD & P.M. GREWE. 2002. Genetic stock structure of bigeye tuna in the Indian Ocean using mitochondrial DNA and microsatellites. *Jour. Fish. Biol.*, 60: 767-770.
- APPELYARD, S.A., P.M. GREWE, B.H. INNES & R.D. WARD. 2001. Population structure of yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) in the western Pacific Ocean, inferred from microsatellite loci. *Mar. Biol.*, 139: 383-393.
- AROCHA, F., L. A. MARCANO, A. LÁREZ, D. ALTUVE & J. ALIÓ. 1999. The fishery, demographic size structure and oocyte development of dolphin fish, *Coryphaena hippurus*, in Venezuela and adjacent waters. *Sci. Mar.*, 63 (3-4): 401-409.
- AVISE, J.C. 1998. Conservation genetics in the marine realm. *The American Genetic Association.*, 89: 377-382.
- AVISE, J.C. & HAMRICK J.L. Population genetic structure of other pelagic fishes, Dolphin Fish. En: Conservation Genetics, Case Histories from Nature. 2^{da} Edición. USA. pp 359.
- BALLOUX, F. & N. LUGON-MOULIN. 2002. Population structuring and microsatellites. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol. Ecol.*, 11:155-165.

- BARBUDO, J.P., 1999. Utilidad y aplicaciones de técnicas moleculares en ecología y conservación de especies. <http://ebd10.ebd.csic.es>.
- BARTLEY, D., M. BAGLEY, G. GALL & B. BENTLEY. 1992. Use of linkage disequilibrium data to estimate effective size of hatchery and natural fish populations. *Conservation Biology*, 6:365-375.
- BEARDSLEY, G. L. Jr., 1967. Age, growth and reproduction of the dolphin fish, *Coryphaena hippurus*, in the Straits of Florida. *Copeia*. 441-451.
- BEERLI, P. 2008. MIGRATE version 3.0 – a maximum likelihood and Bayesian estimator of gene flow using the coalescent. En: <http://popgen.scs.edu/migrate.html>.
- BEGG, G.A., K.D. FRIEDLAND & J.B. PEARCE. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. *Fish. Res.*, 43: 1-8.
- BELKHIR, K., P. BORSA, L. CHICKHI, N. RAUFASTE & F. BONHOMME. 1996-2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- BENTIVOGLIO, A.A. 1988. Investigations into the growth, maturity, mortality rates and occurrence of the dolphin (*Coryphaena hippurus*, Linnaeus) in the Gulf of México. M. Sc. Thesis, University College of North Wales, Bangor, UK. 37 pp.
- BIRKELAND, Ch. & P. K. DAYTON. 2005. The importance in fishery management of leaving the big ones. *Trends Ecol. Evol.* 20 (7): 356-358.
- BOOKE, H.E. 1999. The stock concept revisited: perspectives on its history in fisheries. *Fish. Res.*, 43: 9-11
- BROOKER, A. L., D. COOKE, P. BENTZEN, J.M. WRIGHT & R. W. DOYLE. 1994. Organization of microsatellite differs between mammals and cold-water teleost fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 51: 1959- 1966.
- BURTON, R.S. 2009. Molecular markers, natural history and conservation of marine animals. *BioScience*, 59(10): 831- 840.
- CARLSSON, J., J.R. McDOWELL, P. DÍAZ-JAIMES, J.E.L CARLSSON, S.B. BOLES, J.R. GOLD & J.E. GRAVES. 2004. Microsatellite and mitochondria DNA analyses of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*) population structure in the Mediterranean Sea. *Mol. Ecol.*, 13: 3345-3356.
- CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE, S.C. CIBNOR. 2007. Evaluación biológico-pesquera del dorado *Coryphaena hippurus* y C.

- equiselis* en el Océano Pacífico. Región I. Programa Ecología Pesquera. Guaymas, Sonora.
- CHAKRABORTY, R., M. KIMMEL, D.N. STIVERS, L.J. DAVISON, R. DEKA. 1997. Relative mutation rates at di-, tri, and tetranucleotide microsatellite loci. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 94: 1041-1046.
 - CHAPUIS, M.P & A. ESTOUP. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.*, 24(3): 621-631.
 - CIMMARUTA, R., M. IACONELLI, G. NASCETTI & L. BULLINI. 1998. Genetic diversity in Mediterranean large pelagic fish populations. *Biol. Mar. Mediterr.*, 5(3): 300-310.
 - COOKE, S.J. & I. G. COWX. 2006. Contrasting recreational and commercial fishing: Searching for common issues to promote unified conservation of fisheries resources and aquatic environments. *Biological Conservation.*, 128: 93-108.
 - CORNUET, J.M. & G. LUIKART. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics.*, 144: 2001-2014.
 - CRAIG, M.T., P.A. HASTINGS, D.J. PONDELLA, D.R. ROBERTSON & J.A. ROSÁLES-CASIÁN. 2006. Phylogeography of the flag cabrilla *Epinephelus labriformis* (Serranidae): implications for the biogeography of the Tropical Eastern Pacific and the early stages of speciation in a marine shore fish. *Journal of Biogeography*, 33: 969-979.
 - CRUZ BASTIDA, JORGE ALBERTO. 2009. Estructura genética y filogeografía de las poblaciones de Dorado *Coryphaena hippurus* en el Atlántico. Tesis de Maestría para optar por el título de Maestro en Ciencias Biológicas- Universidad Nacional Autónoma de México –UNAM.
 - ÇİFTCI, Y. & İ. OKUMUS. 2002. Fish population genetics and applications of molecular markers to fisheries and aquaculture: I-basic principles of fish population genetics. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.*, 2: 145-155.
 - DeWOODY, J.A. & J.C. AVISE. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *J. Fish. Biol.*, 56: 461-473.
 - DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN. 1995. Norma Oficial Mexicana NOM-017-pesc-1994. Para regular las actividades de pesca deportiva en las aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos. Tomo N° 15-19. México, D.F.

- DÍAZ-JAIMES, P., M. URIBE-ALCOCER, A. ROCHA-OLIVARES, F. GARCÍA-DE-LEÓN, P. NORTMOON & J.D. DURAND. 2010. Global phylogeography of the dolphin fish (*Coryphaena hippurus*): The influence of large effective population size and recent dispersal on the divergence of a marine pelagic cosmopolitan species. *Molecular phylogenetics and evolution*, 57(3): 1209-1218.
- DÍAZ-JAIMES, P., M.U. ALCOCER, S. ORTEGA-GARCÍA, J.D. DURAND. 2006. Spatial and temporal mitochondrial DNA genetic homogeneity of dolphinfish populations (*Coryphaena hippurus*) in the eastern central Pacific. *Fish. Res.*, 80: 333-338.
- DIERINGER, D. & C. SCHLÖTERER. 2003. Microsatellite Analyzer (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Mol. Ecol. Notes.*, 3: 167-169.
- DITTY, J.G., SHAW, R.F., GRIMES, C.B., COPE, J.S., 1994. Larval development, distribution, and abundance of common dolphin, *Coryphaena hippurus*, and pompano dolphin, *C. equiselis* (Family: Coryphaenidae), in the northern Gulf of Mexico. *Fish. Bull. U.S.*, 92: 275-291.
- DUPANLOUP, I., S. SCHNEIDER & L. EXCOFFIER. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Mol. Ecol.*, 11: 2571-2581.
- ELBY, B.M., R.W. CHAPMAN, G.R. SEDCERRY & J.C. Mc GOVERN. 2002. Stock structure of dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, in the western central Atlantic as determined by molecular genetics techniques. Unpublished.
- ESTOUP, A., P. JARNE & J.M. CORNUET. 2002. Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Mol. Ecol.*, 11: 1591-1604.
- ESTRELLA, C. & G. SWARTZMAN. 2008. The Peruvian artisanal fishery: Changes in patterns and distribution over time. *Fish. Res.*, doi:10.1016/j.fishres.2009.08.007.
- EXCOFFIER, L., G. LAVAL & S. SCHNEIDER (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- EXCOFFIER, L & G. HECKEL. 2006. Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. *Genetics*, 7: 745- 758.

- EVANNO, G., S. REGNAUT & J. GOUDET. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.*, 14: 2611-2620.
- FELDHEIM, K.A., S.H. GRUBER & M.V. ASHLEY. 2001. Population genetic structure of the lemon shark (*Negaprion brevirostris*) in the western Atlantic: DNA microsatellite variation. *Mol. Ecol.*, 10: 295-303.
- FRANKHAM, R., J.D. BALLOU & D.A. BRISCOE. 2010. Introduction to Conservation Genetics. 2^{da} Edición. Cambridge University Press, Cambridge.
- FRANKHAM, R. 1995. Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. *Genetic.Res.*, 66: 95-107.
- FRASER, D.J., M.M. HANSEN, S. ØSTERGAARD, N. TESSIER, M. LEGAUT & L. BERNATCHEZ. 2007. Comparative estimation of effective population sizes and temporal gene flow in two contrasting population systems. *Mol. Ecol.*, 16: 3866-3889.
- FROMENTIN, J.M., B. ERNANDE, R. FABLET & H. De PONTUAL. 2009. Importance and future of individual markers for the ecosystem approach to fisheries. *Aquat. Living Resour.*, 22: 395-408.
- GIBBS, R. H. Jr. & B. B. COLLETTE. 1959. On the identification, distribution and biology of the dolphins *Coryphaena hippurus* and *C. equiselis*. *Bull. Mar. Sci. Gulf. Caribb.*, 9: 117-152.
- GILLESPIE, J.H. The evolutionary advantage of sex. En: Population genetics. A concise guide. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, USA. 1998. Pp 141.
- GLAUBITZ, J.C. 2004. CONVERT: A user friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages. *Mol. Ecol. Notes.*, 4: 309-310.
- GONZALEZ, E., P. BEERLI & R. ZARDOYA. 2008. Genetic structuring and migration patterns of Atlantic bigeye tuna, *Thunnus obesus* (Lowe, 1839). *Evol. Biol.*, 8: 252-266.
- GOUDET, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995).
- GRANT, W.S. & B.W. BOWEN. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *The Journal of Heredity*. 89(5): 415-426.

- GRAVES, J.E., 1998. Molecular insights into the population structures of cosmopolitan marine fishes. *The Journal of Heredity*, 89(5): 427-437.
- GRAY, K.N., J.R. McDOWELL, B.B. COLLETTE & J.E. GRAVES. 2009. A molecular phylogeny of the remoras and their relatives. *Bull. Mar. Sci.*, 84(2): 183-198.
- GUO, S. W. & E. A. THOMPSON. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 48: 361-372.
- HARDY, O.J., N. CHARBONNEL, H. FREVILLE & M. HEUERTZ. 2003. Microsatellite allele sizes: A simple test to assess their significance on genetic differentiation. *Genetics.*, 163: 1467-1482.
- HASTINGS, P.A. 2000. Biogeography of the Tropical Eastern Pacific: distribution and phylogeny of chaenopsid fishes. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 128: 319-335.
- HAUSER, L., G.J. ADCOCK, P.L. SMITH, J.H.B. RAMIREZ & G. CARVALHO. 2002. Loss of microsatellite diversity and low effective population size in an overexploited population of New Zealand snapper (*Pagrus auratus*). *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 99: 11742-11747.
- HEDGECOCK, D. 1994a. Does variance in reproductive success limit effective population sizes of marine organisms?. En: *Genetics and evolution of aquatic organism*. Ed. A. Bemount. Londres. Pp 122-134.
- HEDGECOCK, D. 1994b. Temporal and spatial genetic structure of marine animal populations in the California Current. *CalCOFI Rep.*, 35: 73-81.
- HOWES, J.B., J.W. BROWN. H.L GIBBS, T.B. HERMAN, S.W. MOCKFORD, K.A. PRIOR & P.J. WEATHERHEAD. 2008. Directional gene flow patterns in disjunct populations of the black ratsnake (*Pantheropsis obsoletus*) and the Blanding's turtle (*Emydoidea blandingii*). *Conserv. Genet.* DOI 10.1007/s10592-008-9607-0.
- IUCN. 2010. IUCN Red list of threatened species. Version 2010.4. www.iucnredlist.org
- KALINOWSKI, S. 2005. HP-Rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Mol. Ecol. Notes.*, 5: 187-189.
- KIMURA, M. & T. OHTA. 1978. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 75: 2868-2872.

- KINGSFORD, M.J. & A. DEFRIES. 1999. The ecology of and fishery for *Coryphaena spp.* in the waters around Australia and New Zealand. *Sci. Mar.*, 63(3-4): 267-275.
- KOJIMA, S. 1966. Studies on fishing conditions of the dolphin, *Coryphaena hippurus*, in the western regions of the Sea of Japan- XII. The size of a dolphin school. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 32(8): 652-654.
- KOTOULAS, G., J. MEJUTO, A. ANTONIOU, P. KASAPIDIS, G. TSERPES, C. PICCINETTI, P. PERISTERAKI, B. GARCÍA-CORTÉS, K. OIKONOMAKI, J.M. DE LA SERNA & A. MAGOULAS. 2006. Global genetic structure of swordfish (*Xiphias gladius*) as revealed by microsatellite DNA markers. *Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, 61: 79-88.
- KRAUL, S. 1999. Seasonal abundance of the dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, in Hawaii and the tropical Pacific Ocean. *Sci. Mar.*, 63(3-4): 261-266.
- LATCH, E.K., G. DHARMARAJAN, G.J. GLAUBITZ & O.E. RHODES Jr. 2006. Relative performance of Bayesian clustering software for inferring population substructure and individual assignment at low levels of population differentiation. *Conserv. Genet.*, 7: 295-302.
- LAVÍN, M.F., P.C. FIEDLER, J.A. AMADOR, L.T. BALLANCE, J. FÄRBER-LORDA & A.M. MESTAS-NÚÑEZ. 2006. A review of Eastern tropical Pacific oceanography: Summary. *Progress in Oceanography.*, 69: 391-398.
- LAIRD, P.W., A. ZIJDERVEL, K. LINDERS, M.A. RUDNICKI, R. JAENISCH & A. BERNS. 1991. Simplified mammalian DNA isolation procedure. *Nucl. Ac. Res.* 19, 4293.
- LASSO, J. & L. ZAPATA. 1999. Fisheries and biology of *Coryphaena hippurus* (Pisces: Coryphaenidae) in the Pacific coast of Colombia and Panama. *Sci. Mar.*, 63 (3-4): 387-399.
- LEE, J.S., M.G. HANFORD, J.L. GENOVA, R.A. FARBER. 1999. Relative stabilities of dinucleotide and tetranucleotide repeats in cultured mammalian cells. *Hum. Mol. Genet.*, 8: 2567-2572.
- LEGENDRE, P & F.J. LAPOINTE. 2004. Assessing congruence among distance matrices: single malt Scotch whiskies revisited. *Aust. N Z J Stat.*, 46: 615-629.

- MADRID, J.V. & R. BELTRÁN-PIMIEN. 2001. Longitud, peso y sexo del dorado *Coryphaena hippurus* (Perciformes: Coryphaenidae), del litoral de Sinaloa, Nayarit y Baja California Sur, México. *Rev. Bio. Trop.*, 49(3-4): 931-938.
- MAHON, R. 1999. Dolphinfish fisheries in the Caribbean region. *Sci. Mar.*, 63 (3-4): 411-420.
- MANOUKIS, N.C. 2007. FORMATOMATIC: a program for converting diploid allelic data between common formats for population genetic analysis. *Mol. Ecol. Notes*, 7(4): 592-593.
- MARTINEZ-RINCON, R. O., S. ORTEGA-GARCIA, J. G. VACA-RODRIGUEZ. 2009. Incidental catch of dolphinfish (*Coryphaena spp.*) Reported by the Mexican tuna purse seiners in the eastern Pacific Ocean. *Fish. Res.*, 96: 296-302.
- MERINO, M. & A. MONREAL. 2004. Ocean currents and their impact on marine life. En: Marine Ecology, editada por C.M. Duarte, en *Enciclopedia of life support systems (EOLSS)*. Desarrollado bajo el auspicio de la UNESCO, Eolss Publishers, Oxford, UK, [<http://www.eolss.net>]
- MOTOKI, M., M. ARAI, K. TSUCHIYA & H. OKAMOTO. 2001. Composition of piscine prey in the diet of large pelagic fish in the eastern tropical Pacific Ocean. *Fish. Sci.*, 67: 1063-1074.
- MURRAY, P.A. 1985. Growth and mortality in the dolphin-fish *Coryphaena hippurus* caught off Saint Lucia, En: WECAFC (Ed.), National reports and selected papers presented at the fourth session of the Working Party on assessment of marine fishery resources, pp 147-153. Paipa, Department of Boyacá, Colombia, 29 October-2 November, 1984. FAO Fish, Rep, 327, 290 pp.
- NEFF, B.D. & M.R. GROSS. 2001. Microsatellite evolution in vertebrates: inference from AC dinucleotide repeats. *Evolution*. 55(9): 1717-1733.
- NEL, S. 1995. Commercialization of mahi mahi. *Australasia Aquaculture.*, 9(6): 51-53.
- NELSON, J.S. 1994. Fishes of the World. New York, NY. John Wiley & Sons, Inc.
- NORRIS, R. 2000. Pelagic Species diversity, biogeography, and evolution. *Paleobiology.*, 26(4): 236-258.
- NORTON, J. 1999. Apparent habitat extensions of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in response to climate transients in the California Current. *Sci. Mar.*, 63(3-4): 239-260.

- ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION, FAO. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura 2006. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma, 2007.
- O'TOOLE, B. 2002. Phylogeny of the species of the superfamily Echeneoidea (Perciformes: Carangoidei: Echeneidae, Rachycentridae, and Coryphaenidae), with an interpretation of echeneid hitchhiking behavior. *Can. J. Zool.*, 80: 596-623.
- OXENFORD, H., 1999. Biology of the dolphinfish (*Coryphaena Hippurus*) in the Western Central Atlantic: A Review. *Sci. Mar.*, 63 (3-4): 277-301.
- OXENFORD, H.A., 1985. Biology of the dolphin, *Coryphaena hippurus*, and its implications for the Barbadian fishery. Ph.D. Thesis, University of the West Indies, Cave Hill, Barbados, 366 pp.
- OXENFORD, H & W. HUNTE. 1986. A preliminary investigation of the stock structure of the dolphin, *Coryphaena hippurus*, in the Western Central Atlantic. *Fishery Bulletin.*, 84: 451-460.
- PALKO, B.J., G.L. BEARDSLEY & W.J. RICHARDS. 1982. Synopsis of the biological data on dolphin-fishes, *Coryphaena hippurus* L. and *Coryphaena equiselis* L. NOAA Tech. Rep. NMFS Circular 443, 28.
- PATTHOFF, T. 1980. Development and structure of fins and fins supports in dolphin fishes *Coryphaena hippurus* and *Coryphaena equiselis* (Coryphaenidae). *Fishery Bulletin.*, 78(2): 277-312.
- PEAKALL, R. & P.E. SMOUSE. 2006. Genalex 6: Genetic analysis in Excel. Population software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes.*, 6(1): 288-295.
- PEEL, D., J.R. OVENDEN, S.L. PEEL. 2004. NeEstimator: software for estimating effective population size. Version 1.3. Queensland Government, Department of Primary Industries and Fisheries.
- PERALTA, M. 2006. Aspectos biológicos y pesqueros del recurso dorado (*Coryphaena hippurus*) en aguas ecuatorianas. Instituto Nacional de Pesca. Investigación De Los Recursos Bioacuáticos y su Ambiente. Pg.: 1-26.
- PEREZ, R.N., A.M. ROMAN & G.A. RIVERA. 1993. Investigation of the Reproductive dynamics and preliminary evaluation of landings data of the dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, L. Puerto Rico Department of Natural Resources, Fisheries Research Laboratory, Final Report for Dingell-Johnson Project F26-1: 95.

- PITMAN, R.L. & CH. STINCHCOMB. 2002. Rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*) as predators of mahimahi (*Coryphaena hippurus*). *Pacific Science.*, 56(4): 447-450.
- PLA, C & J.M. PUJOLAR. 1999. Genetic homogeneity of dolphinfish (*Coryphaena Hippurus*) in the Western Mediterranean and the Eastern Atlantic. *Sci. Mar.*, 63 (3-4): 337-341.
- PRITCHARD, J.K., M. STEPHENS & P. DONELLY. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155: 945-959.
- PUDOVKIN, AID., V. ZAYKIN & D. HEDGECOCK. 1996. On the potential for estimating the effective number of breeders from heterozygote excess in progeny. *Genetics*, 144: 383-387.
- RAYMAN, N., F. UTTER & L. LAIKRE. 1995. Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. *Rev. Fish. Biol. Fish.*, 5: 417-446.
- RAYMOND, M., & F. ROUSSET. 1995. *GENEPOP* (version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *Journal of Heredity*. 86: 248-249.
- REED, D.H., T. VIEW-HUNE, G.E. STRATTON & R.A. HATAWAY. 2009. Levels of gene flow among populations of a wolf spider in a recently fragmented habitat: current versus historical rates. *Conserv. Genet.* DOI 10.1007/S10592-009-9995-9.
- REID, J.L. 1997. On the total geostrophic circulation of the Pacific Ocean: flow patterns, tracers, and transports. *Prog. Océanog.*, 39: 263-352.
- RICE, W.R. 1989. Analyzing tables of statistical test. *Evolution*. 43(1): 223-225.
- ROCHA-OLIVARES, A. & J.P. CHAVEZ-GONZALEZ. 2008. Molecular identification of dolphinfish species (genus *Coryphaena*) using multiplex haplotype-specific PCR of mitochondrial DNA. *Ichthyol. Res.*, 55: 389-393.
- ROCHA-OLIVARES, A., M. BOBADILLA-JIMENEZ, S. ORTEGA-GARCIA, N. SAAVEDRA-SOTELO & J.R. SANDOVAL-CASTILLO. 2006. Variabilidad mitocondrial del dorado *Coryphaena hippurus* en poblaciones del Pacífico. *Ciencias Marinas*, 32(3): 569-578.
- ROSE, C.D. & W.W. HASSLER. 1968. Age and growth of the dolphin *Coryphaena hippurus* (Linnaeus), in North Carolina waters. *Trans. Am. Fish. Soc.* 97, 271-276.
- ROSENBERG, N.A. 2004. *Distruct*: a program for the graphical display of population structure. *Mol. Ecol. Notes*, 4: 137-138.

- ROSENBERG, N.A., J.K. PRITCHARD, J.L. WEBER, H.M. CANN, K.K. KIDD, L.A. ZHIVOTOVSKY & M.W. FELDMAN. 2002. Genetic structure of human populations. *Science*, 298: 2381-2385.
- ROSENBLATT, R.H. & R.S. WAPLES. 1986. A genetic comparison of allopatric populations of shore fish species from the eastern and central Pacific Ocean: dispersal or vicariance? *Copeia*. 1986(2): 275-284.
- RYMAN, N. & S. PALM. 2006. POWSIM: a computer program for assessing statistical power when testing for genetic differentiation. *Mol. Ecol.*, 6: 600-602.
- SAKAMOTO, R. & S. KOJIMA. 1999. Review of dolphinfish biological and fishing data in Japanese waters. *Sci. Mar.*, 63(3-4): 375-385.
- SAKAMOTO, R. & N. TANIGUCHI. 1993. Stomach contents of dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, caught around bamboo rafts in Tosa Bay, the waters Southwestern Japan. *Bull. Jap. Soc. Fish. Océanogr. Suisan KaijoKenyo*, 57(2): 17-29.
- SÁNCHEZ IZQUIERDO, ETNA. 2009. Filogeografía del pez dorado (*Coryphaena hippurus*) en el Pacífico oriental por medio de secuencias del citocromo *b* del ADN mitocondrial. Tesis de Licenciatura para optar por el título de Bióloga- Universidad Nacional Autónoma de México-UNAM
- SÁNCHEZ REYES, NORMA ALEJANDRA. 2008. Distribución de las larvas de Dorado *Coryphaena hippurus* y *Coryphaena equiselis* en el Pacífico Oriental Mexicano. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias - CICIMAR- INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL.
- SANTANA, H. 2001. Estructura de la comunidad de pelágicos mayores capturados con palangre en el Pacífico Mexicano (1983-1996) y su relación con la temperatura superficial del mar. Tesis para obtener el título de Doctor en Ciencias Pecuarias – UNIVERSIDAD DE COLIMA.
- SCHEKTER, J., A. LAGIN. & C. LANGLAIS. 1972. Food habits of some larval and juvenile fishes from the Florida Current, near Miami, Florida. Technical Report to the Environmental Protection Agency, Washington, D.C., USA, 85pp.
- SCHLÖTERER, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*. 109: 365-371.
- SCHLÖTERER, C. & D. TAUTZ. 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucl. Ac. Res.*, 20:211-215.

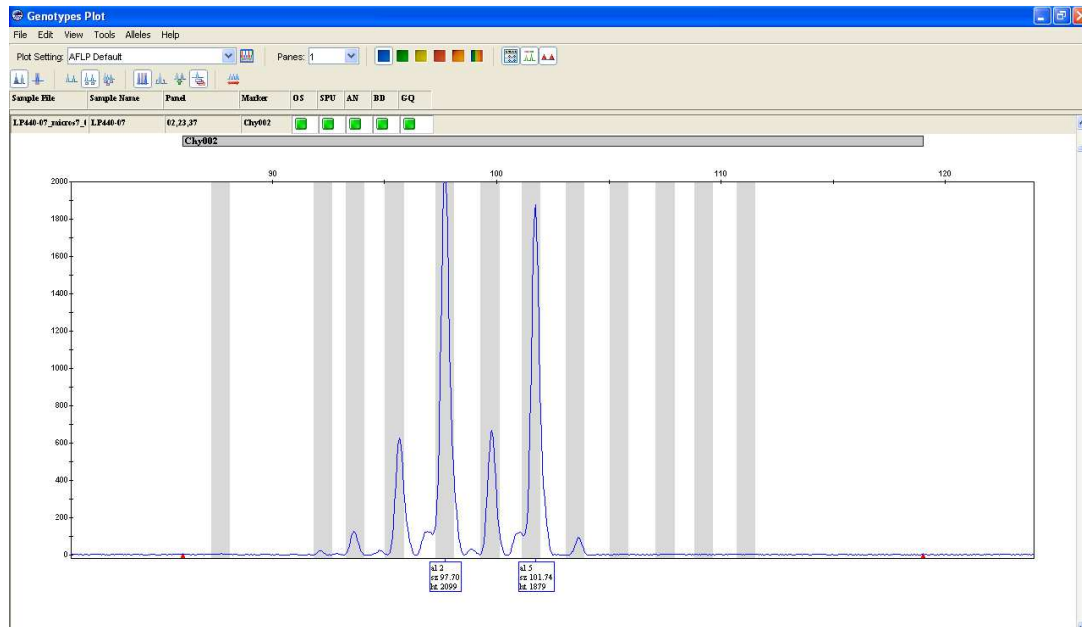
- SHAKLEE, J.B. & P. BENTZEN. 1998. Genetic identification of stocks of marine fish and shellfish. *Bull. Mar. Sci.*, 62(2): 589-621.
- SLATKIN, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics.*, 139: 457-462.
- SOICHI, M. 1978. Spawning behavior of the dolphin, *Coryphaena hippurus*, in aquarium and its eggs and larvae. *Jpn. J. Ichthyol.*, 24: 290-294.
- TAMURA, K., J. DUDLEY, M. NEI & S. KUMAR. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.*, 24: 1596-1599.
- TRIPP-VALDEZ, M., F.J. GARCÍA DE LEÓN, S. ORTEGA-GARCÍA, D. LLUCH-COTA, J. LÓPEZ-MARTÍNEZ & P. CRUZ. 2010. Population genetic structure of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the Gulf of California, using microsatellite loci. *Fish. Res.*, 105(3): 172-177.
- TRIPP-VALDEZ VALDEZ, MIGUEL ANGEL. 2009. Análisis de la estructura genética poblacional del dorado (*Coryphaena hippurus* Linneaus, 1758) en el noroeste del Pacífico Mexicano y Golfo de California mediante el uso de microsatélites. Tesis de Maestría para optar por el título de Maestro en Ciencias-centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
- UCHIYAMA, J.H. & C.H. BOGGS. 2006. Length-weight relationships of dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, and wahoo, *Acanthocybium solandri*: seasonal effects of spawning and possible migration in the Central North Pacific. *Marine Fisheries Review.*, 68(1-4): 19-30.
- VAN OOSTERHOUT C., W.F. HUTCHINSON, P.M.D. WILLS & P. SHIPLEY. 2004. MICROCHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. Notes.*, 4: 535-538.
- WAPLES, R.S. 2005. Genetic estimates of contemporary effective population size: to what time periods do the estimates apply? *Mol. Ecol.*, 14: 3335-3352.
- WAPLES, R.S. 2002. Evaluating the effect of stage-specific survivorship on the Ne/N ratio. *Mol. Ecol.*, 11: 1029-1037.
- WAPLES, R.S. 1998. Separating the wheat from the chaff: Patterns of genetic differentiation in high gene flow species. *The Journal of Heredity*, 89(5): 438-449
- WARD, R.D. 2000. Genetics in fisheries management. *Hydrobiologia*. 420: 191- 201.

- WARD, R.D. 1994. A comparison of genetic diversity levels in marine, fresh-water, and anadromus fishes. *Journal of Fish Biology.*, 44: 213-232.
- WEIR, B.S., & C.C. COCKERHAM. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution.* 38:1358-1370.
- WU, CH., SU, W. & T. KAWASAKI. 2001. Reproductive biology of the dolphin fish *Coryphaena hippurus* on the east coast of Taiwan. *Fish. Sci.*, 67: 784-793.
- ZUÑIGA-FLORES, M.S., S. ORTÉGA-GARCÍA & A. KLETT-TRAUSLEN. 2008. Interannual and seasonal variation of dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) catch rates in the southern Gulf of California, México. *Fish. Res.*, 94:13-17.

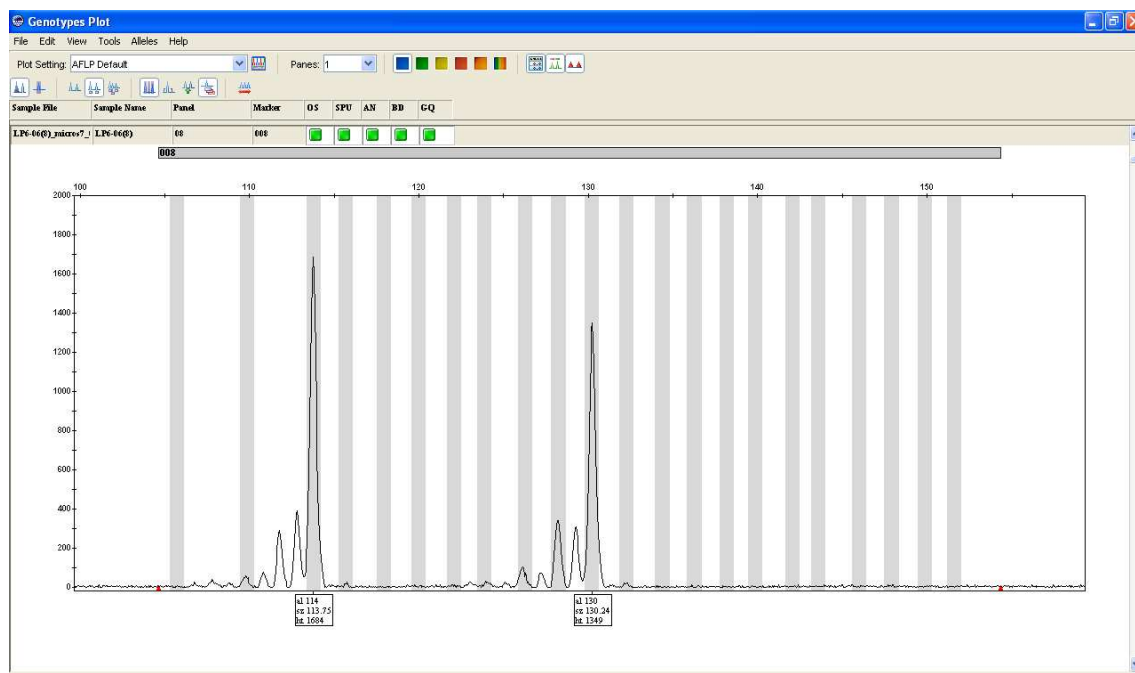
XIII. Apéndice

Imágenes ejemplo de los fluorogramas obtenidos para cada uno de los *loci* para individuos heterocigotos. a) Chy002 b) Chy008 c) Chy008A d) Chy023 y e) Chy037

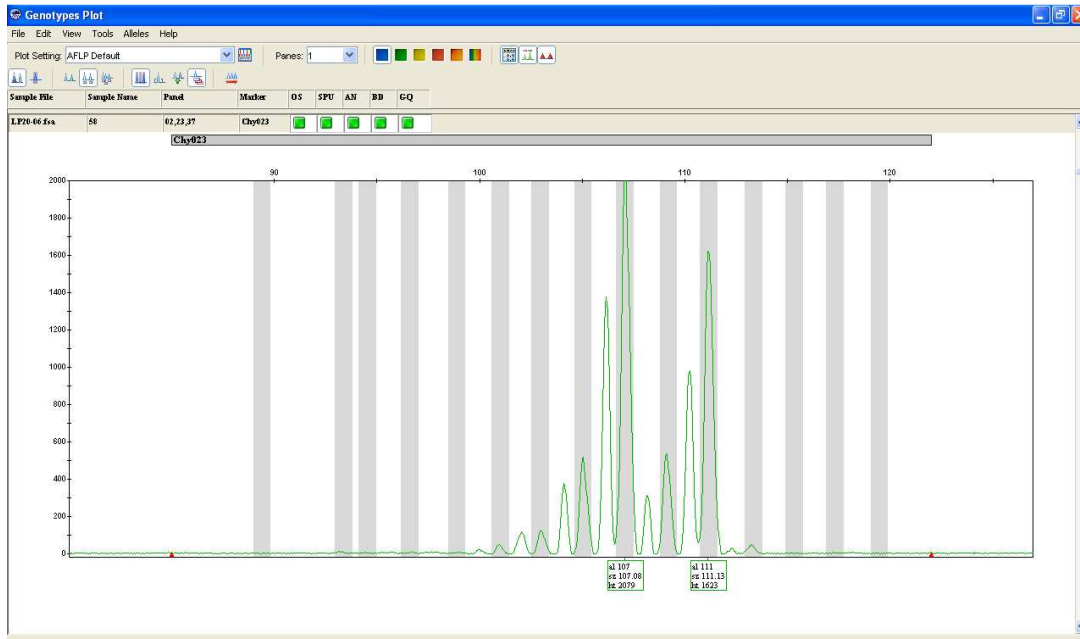
a)



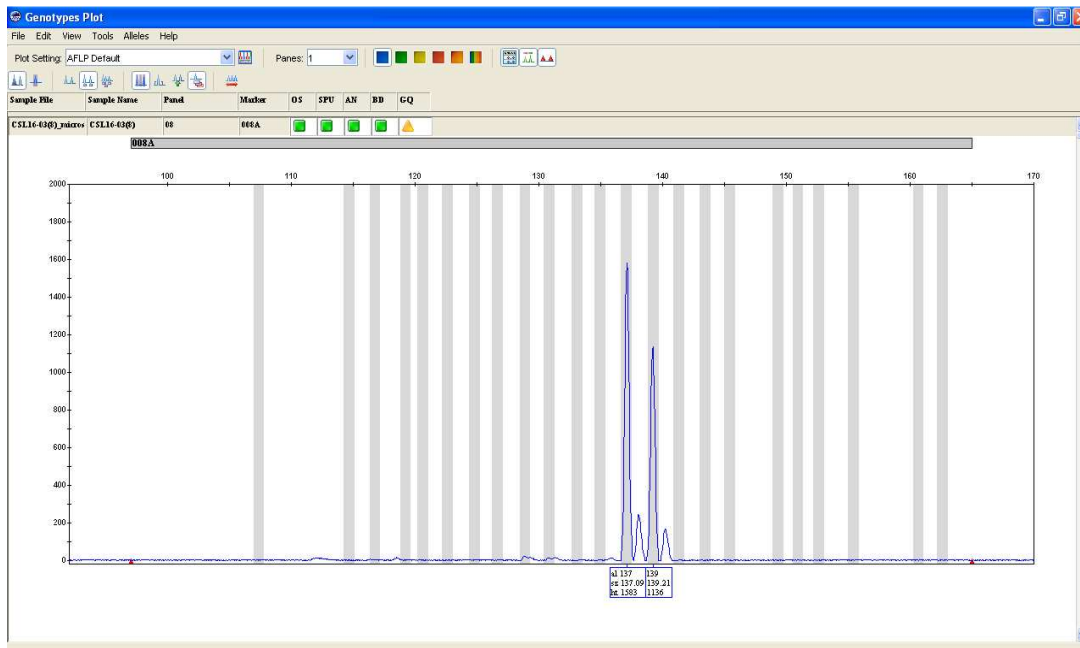
b)



c)



d)



e)

