



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

**ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL Y DEMOGRAFÍA
HISTÓRICA DEL PARGO LUNAREJO *Lutjanus guttatus*
(STEINDACHNER, 1869) DE LAS COSTAS DEL PACÍFICO
ORIENTAL TROPICAL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA MARINA)

PRESENTA:
ADAN FERNANDO MAR SILVA

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Píndaro Díaz Jaimes
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM

COMITÉ TUTOR

Dr. Juan Servando Núñez Farfán -- Instituto de Ecología, UNAM
Dr. Omar Domínguez Domínguez -- Facultad de Biología, UMSNH
Dr. David Alberto Salas de León -- Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM
Dra. Claudia Patricia Ornelas García -- Instituto de Biología, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, MÉXICO, CD. MX., DICIEMBRE, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



**ESTRUCTURA GENÉTICA POBLACIONAL Y DEMOGRAFÍA
HISTÓRICA DEL PARGO LUNAREJO *Lutjanus guttatus*
(STEINDACHNER, 1869) DE LAS COSTAS DEL PACÍFICO
ORIENTAL TROPICAL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS
(Biología Marina)

PRESENTA:
ADAN FERNANDO MAR SILVA

TUTOR PRINCIPAL:

Dr. Píndaro Díaz Jaimes
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM

COMITÉ TUTOR:

Dr. Juan Servando Núñez Farfán -- Instituto de Ecología, UNAM
Dr. Omar Domínguez Domínguez -- Facultad de Biología, UMSNH
Dr. David Alberto Salas de León -- Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM
Dra. Claudia Patricia Ornelas García -- Instituto de Biología, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, MÉXICO, CD. MX., DICIEMBRE, 2023

Dedicatoria

En este momento en el que miro en retrospectiva los pasos que di para lograr la meta de concluir mi etapa de estudiante, me doy cuenta que el amor que mi familia me brindó me dio la fuerza necesaria para seguir y terminar. Este amor me ayudó no solo en lo profesional sino en lo personal, porque me hizo ser la persona y el científico que soy ahora. Papá, mamá, lo lograron sus hijos son personas de bien, los amo.

Por esto la dedicatoria personal es para mi familia. A papá (Valentín), mamá (Teresa), y hermanos (Vale y Luis), con quien aprendí que las dificultades se pueden sortear y que el límite es el que tú mismo te impones. De igual forma, al término de esta etapa la familia creció y ahora mi sobrino (Matteo) y mi cuñada (Ivette) son parte de este camino, en el cual seguimos aprendiendo y madurando. Familia solo quiero que sepan que no cambiaría nada de lo que viví y sigo viviendo con ustedes, soy el más afortunado del mundo.

Sin duda, este trabajo tiene también una dedicatoria especial, que aflora desde lo más profundo de mi corazón. Este fin de ciclo no hubiera sido igual sin el amor de mi vida. Married, llegaste por sorpresa un día de enero de 2020 y cuando vi tus ojos supe que mi vida no sería igual. Hoy un día de diciembre de 2023, estamos aquí juntos y formando una familia, degustando las mieles del éxito. Amor, por fin puedo decir... lo logré. Todo mi esfuerzo lo dedico a ti y a lo que estamos construyendo con nuestros chuchos (Blue y Nopal). “Porque, sin buscarte te ando encontrando en todos lados, principalmente cuando cierro los ojos” (Julio Cortázar).

AGRADECIMIENTOS

Mi más grande agradecimiento y estima al Dr. Píndaro Díaz Jaimes, su apoyo y consejos durante mi proceso doctoral que me permitieron concluir una etapa que inició con mucha incertidumbre, la cual se transformó en aprendizaje a lo largo de estos años, y que hoy culmina al alcanzar una de las metas más importantes de mi vida profesional.

Agradecimiento personal a la Dra. Mariel Ochoa Zavala, el respeto que siento hacia tu trabajo hace que sea un orgullo poder compartir ideas y discutir temas que enriquecieron mi trabajo, tu dedicación y pasión por la ciencia hacen que seas un modelo a seguir. Tus comentarios y aliento fueron cruciales para concluir esta etapa. En el aspecto personal tu apoyo hizo que nunca tuviera dudas de que conseguiría culminar este proceso.

A mi comité tutorial, Dr. Omar Domínguez-Domínguez y Dr. Juan Núñez Farfán, gracias por los consejos y el apoyo brindado durante estos años de trabajo, sin lugar a dudas enriquecieron los resultados finales de la investigación.

A mi Jurado de examen, Dr. David Salas de León y Dra. Patricia Ornelas, gracias por las ideas y comentarios compartidos, los cuales constituyen un pilar fundamental en mi crecimiento profesional. Particularmente, mi agradecimiento para con el Dr. Salas, sus sugerencias y aportaciones hicieron que el componente oceanográfico de mi tesis fuera robusto, así mismo, estoy convencido que podremos conjuntar los resultados que usted tiene con los datos del presente trabajo, y lograremos una publicación en conjunto.

Gracias a mi familia, a mi papá (Vale) y mamá (Teresa) que siempre son el refugio que me permite aislarme del mundo y continuar, gracias a mis hermanos (Vale y Güich), nuestros momentos vividos hacen que me sienta orgulloso de los hombres en los que nos hemos convertido. Matteo, gracias por recordarme lo que significa ser niño de nuevo. A mi cuñada por los momentos vividos.

A Pao, gracias por abrirme las puertas de tu casa y dejarme conocer ese lado tuyo de buena amiga, y porque los chismes nunca faltan. Chava gracias por haber confiado en mí en aquel viaje de tantas horas en carretera que nos enseñó a conocer la paciencia, por tu amistad y por las pláticas compartidas. Pedro, que decir de los momentos y amistad que me has brindado a lo largo de los años, esas pláticas y acompañamiento hicieron más ligero este camino. Nadia, gracias por las charlas y los momentos que compartimos durante nuestros doctorados, no solo crecimos en lo profesional sino como personas.

A mi amiga Eloísa, nos conocimos hace años y nuestra amistad se mantiene firme, de nueva cuenta coincidimos en esta etapa y crecimos profesionalmente. A Arthur, son muchos años de amistad y de aprendizaje. Gracias a los chicos del Laboratorio, particularmente a Loray y Jazmín con quienes compartimos risas y momentos que son parte de mi trayectoria académica. Así como a Cristina, tu apoyo en los análisis bioinformáticos permitieron tener resultados robustos. Gracias a los chicos del programa delfín y a los de los veranos de investigación que me permitieron desarrollar mi faceta de asesor.

Así mismo, agradezco al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología y en particular al Laboratorio de Genética de Organismos acuáticos, el espacio que me brindó para la exitosa conclusión de mi trabajo doctoral, en mi memoria siempre estará el grato recuerdo de la que fue mi casa durante estos años.

Agradecimiento al Dr. Julio Rozas, al Dr. Joan Ferrer Obiol y a la Dra. Silvia Hinojosa Alvarez, por el apoyo y la oportunidad de realizar mi estancia de investigación en la Universitat de Barcelona.

Al Dr. Travis Glenn y la Dra. Natalia Bayona Vásquez, por la oportunidad de realizar mi estancia de investigación en la universidad de Georgia. Particularmente, gracias el tiempo y las revisiones realizadas en el presente trabajo.

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, por otorgarme la oportunidad y las condiciones necesarias para alcanzar mi desarrollo profesional. Al apoyo económico otorgado por el CONACYT a través de la beca de Doctorado con número 444276.

A la coordinación de Supercómputo, DGTIC, UNAM, a través del Laboratorio Nacional de Cómputo de Alto Desempeño por brindar el soporte necesario para el análisis de datos genómicos empleando el cluster 3000 SL "Miztli", mediante el proyecto LANCAD-UNAM-DGTIC-341(2019-2023).

Al Dr. Manuel Uribe, agradezco sus consejos y el apoyo durante el tiempo que coincidimos en el Instituto, así como los momentos compartidos durante los viajes de campo y congresos, sin lugar a dudas fue una parte importante en mi desarrollo profesional.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE TABLAS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	V
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Los pargos	6
2.2. Uso de marcadores moleculares	8
2.3. Patrones de estructuración genética en especies marinas	14
2.4. Estudios genético poblacionales en especies marinas en el Pacífico Oriental Tropical	16
2.5. Estudios poblacionales empleando SNPs	20
2.6. Estudios Poblacionales en <i>Lutjanus guttatus</i>	24
III. AREA DE ESTUDIO	27
3.1. El Pacífico Oriental Tropical.....	27
3.2. Regionalización del Pacífico Oriental Tropical.....	29
3.3. El Golfo de Panamá y zona norte del POT	32
IV. JUSTIFICACION	34
V. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	35
5.1. Pregunta general	35
5.2. Preguntas específicas.....	35
VI. HIPOTESIS.....	36
VII. OBJETIVO GENERAL.....	36
7.1. Objetivos específicos.....	36
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	37
8.1. Colecta y registros	37
8.2. Trabajo de laboratorio.....	39
8.3. Elaboración de librerías genómicas	39
8.4. Procesamiento de datos	42
8.5. Detección de loci bajo selección (Outlier loci)	43
8.6. Estimación de riqueza y diversidad genética.....	44
8.7. Evaluación de la estructura poblacional	44
8.8. Aislamiento por distancia, ambiental y por resistencia.....	45
8.9. Migración espacial.....	47
8.10. Demografía histórica.....	47

IX. RESULTADOS	51
9.1. Selección de SNPs y detección de loci bajo selección (outliers)	51
9.2. Diversidad genética	55
9.3. Estructura poblacional	57
9.4. Aislamiento por distancia (IBD), aislamiento por ambiente (IBE) y aislamiento por resistencia (IBR).....	67
9.5. Variación genética en el espacio geográfico.....	69
9.6. Demografía Histórica.....	72
X. DISCUSIÓN	74
10.1. Diversidad genética	74
10.2. Estructura genética en <i>Lutjanus guttatus</i>	76
10.3. Condiciones oceanográficas que influyen en la variación genética	80
10.4. Distancia geográfica y migración espacial	83
10.5. Demografía histórica.....	84
10.6. Limitaciones en el uso de SNPs	86
10.7. Implicaciones en la conservación.....	87
XI. CONCLUSIONES	89
XII. LITERATURA CITADA	90
ANEXO I: PROTOCOLO RADCAP	104
ANEXO II: FLUJO DE TRABAJO PARA LA OBTENCIÓN DE VARIANTES (SNPS)	109
ANEXO III: RESULTADOS COMPLEMENTARIOS	113

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Esquema general del ciclo de vida de los pargos	6
Fig. 2. Estadios de <i>Lutjanus guttatus</i>	7
Fig. 3. Esquema general de secuenciación masiva	10
Fig. 4. Esquema general de la elaboración de librerías genómica por el método 3RAD	12
Fig. 5. Variación climática en el Golfo de California	18
Fig. 6. Distribución y red de haplotipos de <i>Elacatinus puncticulatus</i>	19
Fig. 7. Sitios de colecta y análisis DAPC de <i>Lutjanus peru</i>	20
Fig. 8. Localidades de <i>Symphodus ocellatus</i> y <i>S. tinca</i> en el mediterráneo occidental	22
Fig. 9. Distribución <i>Lythrypnus gilberti</i> y resultados de structure	23
Fig. 10. Red de hapotipos de <i>Lutjanus guttatus</i>	26
Fig. 11. Mapa del Pacífico Oriental Tropical	27
Fig. 12. Principales corrientes del Pacífico Oriental Tropical	29
Fig. 13. Mapa del Golfo de Panamá	32
Fig. 14. Sitios de muestreo de <i>Lutjanus guttatus</i> en el Pacífico Oriental Tropical	37
Fig. 15. Esquema de los escenarios evaluados para demografía histórica	48
Fig. 16. Mapas de calor para evaluar datos faltantes	51
Fig. 17. Cobertura de secuenciación	53
Fig. 18. Resultados del análisis de desequilibrio de ligamiento	54
Fig. 19. Índices de diversidad genética	55
Fig. 20. Valores de confianza del análisis de F_{is}	57
Fig. 21. Resultados de DAPC para loci combinados	64
Fig. 22. Resultados de DAPC para loci neutrales y bajo selección	65
Fig. 23. Resultados del error de variación cruzada para ADMIXTURE	66
Fig. 24. Resultados de ADMIXTURE para todas las bases de datos	66
Fig. 25. Resultados de la evaluación del aislamiento por distancia	67
Fig. 26. Resultados de la evaluación del aislamiento por distancia en el Grupo norte	68
Fig. 27. Resultados de la evaluación del aislamiento por ambiente y resistencia	69
Fig. 28. Superficie de migración efectiva y diversidad genética para loci combinados	70
Fig. 29. Superficie de migración efectiva para loci neutrales	71
Fig. 30. Diversidad genética calculada con EEMS	72
Fig. 31. Resultado del análisis de componentes principales para demografía histórica	73

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Sitios de colecta de los individuos de <i>Lutjanus guttatus</i>	38
Tabla 2. Individuos utilizados para elaborar pruebas del método RADcap	40
Tabla 3. Rangos utilizados para calibrar los modelos de demografía histórica	50
Tabla 4. Localidades y número de organismos	52
Tabla 5. Índices de diversidad genética	56
Tabla 6. Valores de F_{ST} pareados utilizando los loci combinados	58
Tabla 7. Valores de F_{ST} pareados utilizando los loci neutrales	59
Tabla 8. Valores de F_{ST} pareados utilizando los loci bajo selección	60
Tabla 9. Resultados de SAMOVA	62
Tabla 10. Resultados de AMOVA	63
Tabla 11. Tamaño efectivo poblacional calculados con los loci neutrales	73

RESUMEN

En general se considera que las poblaciones marinas presentan un patrón de panmixia a lo largo de su rango de distribución. Esta hipótesis ha sido fundamentada en trabajos donde se han utilizado marcadores neutrales, los cuales han obtenido altos valores de flujo genético asociado generalmente a la duración de la larva pelágica y al efecto de las corrientes oceánicas. Sin embargo, recientemente la panmixia ha sido refutada con el uso de polimorfismos de nucleótido único (SNP), los cuales son marcadores moleculares obtenidos por medio de protocolos de secuenciación de nueva generación. Los SNPs han resultado ser eficaces en la evaluación de procesos evolutivos en diferentes escalas temporales, esto debido a la posibilidad de analizar por separado loci neutrales (NL) y bajo selección (OL). La evaluación de la selección mediada por la adaptación es un proceso que en el ambiente marino había sido poco analizada. Sin embargo, recientemente los trabajos de genómica poblacional han demostrado que es una fuerza evolutiva que juega un papel relevante en la diferenciación genética de las poblaciones marinas. El Pacífico Oriental Tropical (POT) es una región que presenta una marcada variación en los factores oceanográficos como la temperatura o la salinidad, así mismo, esta región presenta un complejo sistema de corrientes, lo que genera una heterogeneidad ambiental. Lo anterior, hace del POT un modelo interesante para evaluar procesos adaptativos, que hasta la fecha han sido escasamente considerados. *Lutjanus guttatus* es una especie demersal con una amplia distribución a lo largo del POT. Trabajos previos realizados en *L. guttatus* han concluido que se trata de una especie genéticamente homogénea. La falta de diferenciación genética en la especie se ha asociado al efecto de la deriva larvaria y el desplazamiento de los organismos a través de las corrientes. Debido a esto, el presente trabajo buscó realizar un estudio poblacional empleando SNPs para determinar la existencia de algún patrón de diferenciación genética promovido por la heterogeneidad ambiental. Mediante el protocolo RADcap, se recuperaron 2003 SNPs de 123 individuos pertenecientes a 17 localidades ubicadas en el POT. La base de datos de SNPs fue analizada por separado en NL y OL. Con estas bases de datos, se realizaron análisis de genética poblacional clásicos (DAPC, F_{ST} , AMOVA, ADMIXTURE), y se evaluó la migración espacial efectiva para evaluar la presencia de posibles barreras al flujo genético. Resultados contrastantes fueron obtenidos entre los NL y los OL. Los NL indicaron

una homogeneidad genética en todos los análisis realizados. Por otro lado, los OL, recuperaron una diferenciación genética marcada con valores de F_{ST} pareados de 0.427 a 0.670 ($p < 0.015$) en tres localidades al sur de la distribución de la especie: Panamá, Colombia y Ecuador. Este resultado fue consistente en los análisis de DAPC y ADMIXTURE, por lo que se determinó agrupar las localidades en Grupo Norte y Sur. Finalmente, el análisis de AMOVA evaluando estos dos grupos resultó significativo en los OL ($F_{CT} = 0.4860$; $p < 0.001$). La estimación de la migración espacial efectiva con los OL recuperó una barrera al flujo genético que coincidió con el giro de la ensenada de Panamá, región en la que se ha descrito anteriormente estructuración genética en numerosas especies. Por tanto, nuestros resultados indican que la selección mediada por la adaptación, está jugando un papel trascendental en la estructuración de la especie y se ajustan al modelo de migración-selección. El presente trabajo representa la primera aproximación que identifica diferenciación genética entre poblaciones de *L. guttatus* a lo largo de su rango de distribución. Esto pone de manifiesto que es necesario considerar el uso de herramientas genómicas para la evaluación genética más fina de otros procesos evolutivos que pudieran estar influenciando en la diferenciación genética en la especie, y de esta forma tener una conclusión más certera de la diferenciación poblacional.

Nota: Los resultados, principales, imágenes y discusión general, fueron publicados en la revista *PeerJ* bajo el título “Genomic assessment reveals signal of adaptive selection in population of the Spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* from the Tropical Eastern Pacific”. doi: 10.7717/peerj.15029.

ABSTRACT

Marine populations are usually perceived as panmictic along its distribution range. The panmixia hypothesis has been found in previous research where neutral markers were used. General conclusions of these investigations were the existence of the highest values of gene flow associated with the pelagic larval duration and the effect of the ocean currents. Nevertheless, the panmixia hypothesis has been refuted recently with the use of the Single Nucleotide Polymorphism (SNP) markers, which are obtained through the Next Generation Sequencing protocols. SNPs markers are useful in the assessment of evolutionary processes at different time scales due to the advantage of analyzing neutral loci (NL) and putative loci under selection (outlier loci, OL) independently. Selection mediated by adaptation to local conditions had been little evaluated in the marine environment. However, the recent development of genomic analyzes have shown that this evolutionary force plays a relevant role in the genetic differentiation of marine populations. The Tropical Eastern Pacific (TEP) is a complex region with a strong variation in its oceanographic conditions as observed in temperature or salinity factors. Furthermore, this region is characterized by a complex current system, which together generates a heterogeneous environment making the TEP an interesting model to evaluate adaptive processes. *Lutjanus guttatus* is a demersal species with a wide distribution along the TEP. Previous research in *L. guttatus* has concluded that it is a species that presents genetic homogeneity. The panmixia recovered in *L. guttatus* was associated with the larval drift and the movement of individuals by currents. Because of this, the main goal of this dissertation was to perform a population genomic evaluation of *L. guttatus* using SNPs to determine genetic differentiation of its populations and whether it could be related with the environment heterogeneity in the TEP. The downstream analyzes were carried out with a dataset of 2003 SNPs obtained through the RADcap protocol from 123 individuals in 17 localities along the continental coast of the TEP. The SNPs dataset was analyzed independently in NL and OL, using the traditional population genetics analyzes (DAPC, F_{ST} , AMOVA, ADMIXTURE), as well as, the effective spatial migration to obtain possible barriers to gene flow. The NL dataset indicated a population genetic homogeneity for all analyzes. In contrast, the OL dataset recovered high and significant genetic differentiation in three localities from the southern distribution: Panama, Colombia, and Ecuador, which showed values of paired F_{ST} from

0.427 to 0.670 ($p < 0.015$). This result was consistent in the DAPC and ADMIXTURE, hence, we decided to group localities into Northern and Southern clusters. Finally, the AMOVA evaluation for these two groups indicated a significant differentiation ($F_{CT} = 0.4860$; $p < 0.001$). The contrasting result observed between NL and OL fitted with the migration-selection balance model. In addition, the effective spatial migration evaluated with the OL recovered a barrier to gene flow that matches with the Panama Bight Gyre, a region that previously was found to be related with the genetic structure of a number of species distributed in the region. Therefore, our result indicated that selection promoted by the local adaptation is playing a relevant role in the genetic structure of this species. In conclusion, for the first-time genetic differentiation was found in *L. guttatus* along its distribution range, which reveals that is necessary to consider that this species is facing different evolutionary process at different time scales which make necessary to carry out finer genetic analyzes to obtain a clear conclusion about the genetic differentiation of *L. guttatus*.

Note. Main results, figures, and discussion was published in *PeerJ* under the title “Genomic assessment reveals signal of adaptive selection in population of the Spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* from the Tropical Eastern Pacific”. doi: 10.7717/peerj.15029.

I. INTRODUCCIÓN

La genética de poblaciones evalúa y cuantifica la variación que existe entre las poblaciones naturales y cómo es que las fuerzas evolutivas están relacionadas con los patrones de diferenciación genética y su distribución espacial (Templeton, 2006; Eguiarte-Fruns *et al.*, 2013). La genética poblacional se fundamentó inicialmente en la teoría neutral de la evolución, la cual determina que muchas de las mutaciones que se encuentran en el genoma no producen ninguna ventaja adaptativa, por lo que estos cambios no se relacionan con el ambiente; si no a procesos estocásticos (Kimura, 1968; Futuyma, 1986). Debido a esto, estudios basados en marcadores neutrales como lo son genes mitocondriales o los microsatélites, han inferido patrones de estructura genético-poblacional, expansiones poblacionales o inclusive patrones filogeográficos, lo cual ha resultado útil para comprender cómo la deriva y el flujo genético han influido en los procesos demográficos de las especies, resultando particularmente valiosos en la determinación de patrones de conectividad en el ambiente marino.(Diaz-Jaimes *et al.*, 2010; Mariani & Bekkevold, 2014; Hernández-Álvarez *et al.*, 2020; Torres-Hernández *et al.*, 2022; Ochoa-Zavala *et al.*, 2022).

Las especies marinas por lo general se conforman por una serie de poblaciones que presentan constante flujo genético, manteniendo así una alta conectividad (Cowen *et al.*, 2000; Cowen & Sponaugle, 2009). Así mismo, si las poblaciones presentan altos niveles de variación, implicaría que son muy grandes, y además presentan un constante flujo genético entre ellas; si por el contrario las poblaciones muestran diferencias genéticas sustanciales, podría deberse al poco flujo genético que mantienen y en general se podría considera que se trata de poblaciones pequeñas (Eguiarte-Fruns *et al.*, 2013; Álvarez-Noriega *et al.*, 2020). El constante flujo genético, los grandes tamaños efectivos poblacionales y la aparente ausencia de barreras físicas en el ambiente marino han promovido la idea de que muchas especies están conformadas por poblaciones panmícticas a lo largo de su rango de distribución (Munguia-Vega *et al.*, 2018; Hernández-Álvarez *et al.*, 2020). Este patrón panmíctico ha generado nula o baja diferenciación genética en especies costeras, lo cual se ha relacionado con la duración de la larva pelágica, y la acción que las corrientes tienen

sobre estas (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020; Loera-Padilla *et al.*, 2021; Palmerín-Serrano *et al.*, 2021).

Sin embargo, la idea de panmixia en el ambiente marino ha sido recientemente refutada con estudios en los que se han encontrado estructuración genética en especies costeras e inclusive pelágicas (García de León *et al.*, 2018; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021; Mendoza-Portillo *et al.*, 2020). Esta diferenciación genética entre las poblaciones se debe, entre otras causas, a los complejos y heterogéneos ambientes en donde habitan. Entre los factores más empleados para tratar de establecer patrones de diferenciación genética, y que en general contribuyen en la dinámica poblacional, se encuentran la distancia geográfica, las corrientes oceánicas, los frentes oceánicos, la salinidad y la temperatura, así como la disponibilidad de hábitat (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Palmerin-Serrano *et al.*, 2021; Reguera Rouzaud *et al.*, 2021). Por otro lado, las características bióticas intrínsecas como tiempo y lugar de desove, duración de la larva pelágica, así como las áreas de crianza, pueden también promover la diferenciación genética de las poblaciones (García de León *et al.*, 2018).

Es por esto que la evaluación de posibles barreras a la dispersión en el ambiente marino resulta un reto (Tovar-Verba *et al.*, 2023), pero a la vez es indispensable para explicar los diversos procesos evolutivos que afectan a las especies (Bernardi, 2022). Recientemente, se ha evaluado como es que los gradientes ambientales influyen en la diferenciación de las poblaciones marinas al generar procesos adaptativos; ya que la adaptación es el mecanismo que permite a los individuos establecerse en su hábitat a pesar de las condiciones del mismo, generando características que favorecen tanto su fertilidad como su sobrevivencia y en cierto grado generan variación genética (Mayr, 2001, Bernardi, 2022). Debido a lo anterior, podemos comprender como es que la capacidad que presentan los organismos marinos para adaptarse a un ambiente dinámico ha contribuido en la evolución orgánica, generando un sinnúmero de formas únicas y extraordinarias en el océano. Por ejemplo, la variación ambiental puede promover procesos adaptativos que limiten el desplazamiento de organismos entre diferentes regiones (Torrado *et al.*, 2020).

Aunque la adaptación es un proceso fundamental en la evolución biológica, está ha sido muy poco evaluada en los estudios evolutivos en ambientes marinos (Nielsen *et al.*, 2009; Bernardi 2022). Esto se debe sobre todo a la predominancia de investigaciones utilizando datos neutrales. Si bien estos estudios allanaron el camino hacia el entendimiento de patrones históricos en las especies, resultan insuficientes para describir patrones de diferenciación en escalas evolutivas recientes (Milano *et al.*, 2014; Bernardi, 2022). Trabajos enfocados en comprender cómo es que los factores ambientales contribuyen en los procesos adaptativos de las especies requieren de marcadores que puedan estar sujetos a selección (Galià-Camps *et al.*, 2022). Debido a esto, con el objetivo de determinar si existen procesos adaptativos que contribuyan en la diferenciación genética de las poblaciones se ha emprendido una búsqueda constante de protocolos para la obtención de marcadores que permitan evaluar procesos evolutivos recientes. Esto ha promovido el desarrollo de un sin fin de metodologías que buscan una representación significativa del genoma. Actualmente las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés), han logrado este objetivo, por lo que están revolucionando los estudios poblacionales en especies marinas (Hemmer-Hansen *et al.*, 2014; Crawford & Oleksiak, 2016),

Particularmente, las metodologías que fragmentan el ADN genómico empleando enzimas de restricción, han sido ampliamente desarrolladas. Estos protocolos son conocidos como "Secuenciación de fragmentos de ADN asociados a sitios de restricción" (RADseq, por sus siglas en inglés), los cuales permiten secuenciar una amplia región del genoma y detectar regiones variables del mismo, sin que sea un requisito indispensable contar con información previa de la especie. Las tecnologías RADseq utilizan una combinación de enzimas con sitios de reconocimiento frecuentes a lo largo del genoma y permiten de esta forma una fragmentación química del mismo (Baird *et al.*, 2008; Davey & Blaxter, 2010).

El auge del desarrollo de los protocolos RADseq ha dado como resultado la obtención de una gran cantidad de marcadores conocidos como SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido), los cuales se encuentran desde miles hasta inclusive millones a lo largo del genoma (Ku *et al.*, 2010). Sin embargo, es importante resaltar que la cantidad de marcadores SNPs que podemos utilizar con los métodos genómicos no es el atributo

principal de este tipo de datos, su mayor ventaja radica en la capacidad que nos brindan de evaluar procesos tanto históricos como contemporáneos, ya que es posible analizar tanto SNPs neutrales como aquellos que puedan estar putativamente sujetos a procesos selectivos (Pecoraro *et al.*, 2018; Bernardi, 2022). Esto ha permitido responder diversas preguntas evolutivas en especies que no cuentan con un genoma de referencia (especies no modelo), aportando resultados de interés en la evaluación de la estructura genética poblacional de estas especies (Torrado *et al.*, 2020; Benestan *et al.*, 2021). Por ejemplo, a nivel ecológico ha sido posible determinar como la temperatura y las corrientes pueden ser un factor determinante en la adaptación local (Torrado *et al.*, 2020; Mendoza-Portillo *et al.*, 2020; Bernardi 2022;). De igual manera los estudios de RADseq han sido efectivos en la definición de stocks pesqueros, los cuales son indispensables para el manejo de especies de importancia comercial, e inclusive en la resolución de relaciones filogenéticas entre especies (Diaz-Arce *et al.*, 2016; Mendoza-Portillo *et al.*, 2020; Aguirre-Sarabia *et al.*, 2021; Portnoy *et al.*, 2021).

Una gran cantidad de estudios poblacionales en peces marinos utilizando información genómica se han realizado en el mar Mediterráneo, así como en los océanos Atlántico e Indo-Pacífico (Carreras *et al.*, 2017; Pecoraro *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2019; Torrado *et al.*, 2020), lo cual es contrario a los escasos trabajos que se han efectuado en el Pacífico Oriental Tropical (POT), esto a pesar de la importancia que el POT tiene como fuente de endemismos (Zapata & Robertson, 2007). De manera general se considera que el POT es una cuenca abierta con un sistema de corrientes inestables, las cuales, en conjunto con las variables ambientales y el clima, generan un ambiente heterogéneo a lo largo de la región, lo cual lo hace un excelente modelo para evaluar si existen factores oceanográficos que contribuyan en la diferenciación genética de las especies ampliamente distribuidas en el POT.

Lutjanus guttatus (pargo rosado), es una especie perteneciente a la familia Lutjanidae, se distribuye en el POT desde el sur de Bahía Magdalena, en Baja California, hasta el norte de Perú (Robertson & Allen 2008), siendo más abundante en las zonas costeras de la parte central del Pacífico y en Baja California. Se trata de una especie demersal en la cual los adultos están fuertemente asociados a un substrato rocoso, que utilizan como refugio (Palacios & Zapata, 2014; Robertson & Allen, 2015), mientras que los

juveniles es posible encontrarlos en estuarios y desembocaduras de ríos. Como en otros lutjanidos, el pargo rosado habita zonas muy cercanas a la línea costera y los movimientos tanto de adultos como de juveniles, se limitan a las zonas de alimentación próximas a estas regiones, sin que existan reportes de grandes migraciones durante estos estadios (Hernández-Álvarez, 2015). Por tanto, se considera que los patrones de dispersión de la especie pueden estar determinados por la duración de su larva pelágica y los patrones de circulación del POT (Munguia-Vega *et al.*, 2018). La especie es de importancia económica a lo largo del POT y aunque está categorizada como de preocupación menor por la Unión para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés), una correcta evaluación de su diferenciación genética es fundamental. Los trabajos previos que utilizan datos mitocondriales y microsatélites indican que se trata de una especie panmíctica con un tamaño efectivo poblacional grande, y que ha experimentado una expansión reciente (Hernández-Álvarez *et al.*, 2019; Díaz-Viloria *et al.*, 2023). Sin embargo, una aproximación genómica permitirá confirmar, con un mayor grado de confianza, la ausencia de estructura genética a lo largo de su ámbito de distribución.

En el presente estudio se evaluó la diferenciación genética entre poblaciones de *L. guttatus*, empleando información obtenida de SNPs (tanto neutrales como sujetos a selección), de organismos colectados a lo largo de la costa continental del POT. De acuerdo con la información de estudios previos, en donde se detectó la ausencia de diferenciación genética a lo largo del POT empleando marcadores neutrales, se considera que la especie presenta un constante flujo genético y por tanto se trata de una población panmíctica. No obstante, y considerando que la heterogeneidad ambiental y las complejas características oceanográficas del POT pueden actuar en los procesos adaptativos, es posible que la selección pueda estar jugando un papel trascendental en la adaptación local de la especie, lo cual podría generar diferenciación genética entre poblaciones de *L. guttatus*, por tanto, los resultados contrastantes entre loci neutrales y bajo selección, nos permitirá determinar si está actuando la selección en presencia de la migración. Finalmente, debido a la continua distribución de la especie en el POT y la capacidad de dispersión de ésta que es mediada por las corrientes, se realizó un análisis de aislamiento por distancia, para evaluar si la distancia geográfica tiene algún efecto en la población.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Los pargos

Los teleósteos del orden Perciformes son considerados el grupo más diverso del planeta, con alrededor de 145 familias tanto dulceacuícolas como marinas (Johnson, 1980). La familia Lutjanidae, perteneciente a este orden, comprende 17 géneros y 103 especies (Allen, 1985). El género *Lutjanus* es el que presenta la mayor diversidad de especies de la familia con cerca de 65, a este grupo se le conoce vernáculamente como pargos (Anderson & Allen, 2001), y gran parte de estos son de importancia comercial. La mayoría de los pargos habitan en la región del Indo-Pacífico, sin embargo, en el Pacífico Oriental Tropical (POT) encontramos 10 especies endémicas (Robertson & Allen, 2002), y dos más que se distribuyen también en el Indo-Pacífico (Robertson & Allen, 2015). La mayoría de los pargos son demersales, habitan comúnmente mares tropicales, aunque los podemos encontrar en aguas subtropicales y templadas. Algunas especies viven en estuarios de aguas salobres, y en etapas juveniles es posible que se desplacen a los ríos cercanos (Fig. 1).

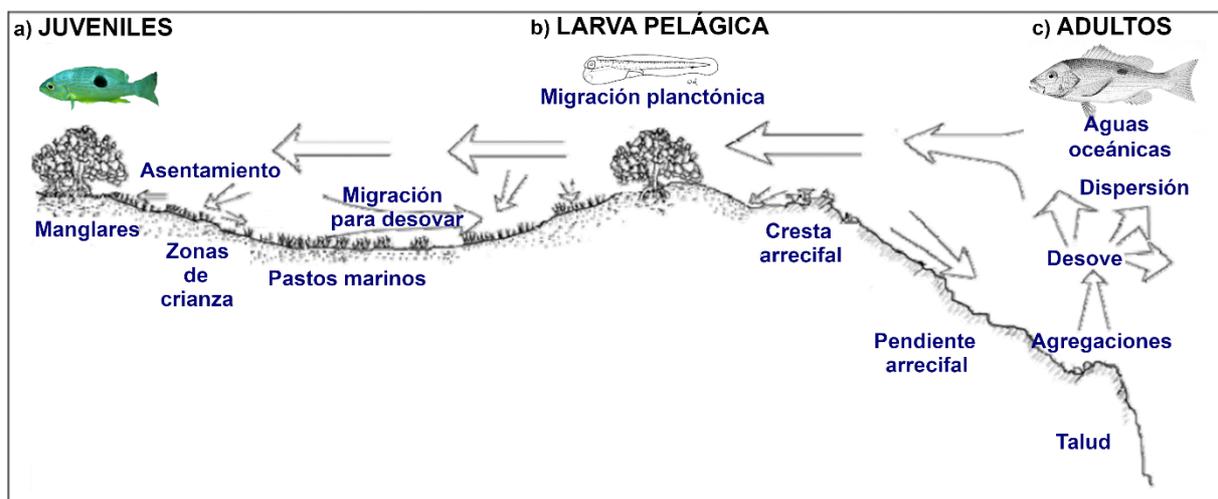


Fig. 1. Esquema general del ciclo de vida de los pargos, modificado de Claro & Lindeman, (2008). a) Organismo juvenil de *Lutjanus guttatus* (modificada de <https://mexican-fish.com/spotted-rose-snapper/>). b) Esquema de larva pelágica de *Lutjanus synagris* (modificada de Clarke, Domeier y Laroche, (1997). c) Organismo adulto de *Lutjanus guttatus* (tomado de https://es.wikipedia.org/wiki/Lutjanus_guttatus).

Todos los pargos son depredadores activos desde el anochecer hasta el amanecer, así como durante el crepúsculo. Se alimentan principalmente de crustáceos, peces y ocasionalmente de sepias y vermes (Allen, 1995). La especie *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869), conocida vernáculamente como pargo lunarejo, se distribuye en

el POT desde el Golfo de California, en México hasta Perú (Fischer *et al.*, 1995; Allen & Robertson, 1998; Castro-Aguirre *et al.*, 1999; Amezcua-Linares, 2008).

Lutjanus guttatus es una especie de hábitos solitarios, es poco frecuente observarla formando cardúmenes. En estadios juveniles habitan estuarios y bocas de ríos y su coloración es plateada con una mancha negra en la región dorsal (Fig. 2a y 2b). En el caso de los adultos presentan una coloración entre rojiza a rosada, y la mancha negra se vuelve tenue (Fig. 2c y 2d). La especie habita sobre todo en arrecifes costeros hasta unos 120 m de profundidad (Allen, 1985; Rojas 1997). Las migraciones en los estadios juveniles o adultos no han sido reportadas (Hernández-Álvarez, 2015), por lo que es común observar a los individuos juveniles en zonas de manglares o desembocaduras de ríos los cuales los utilizan como refugio, mientras que los adultos se encuentran en zonas cercanas a la costa.

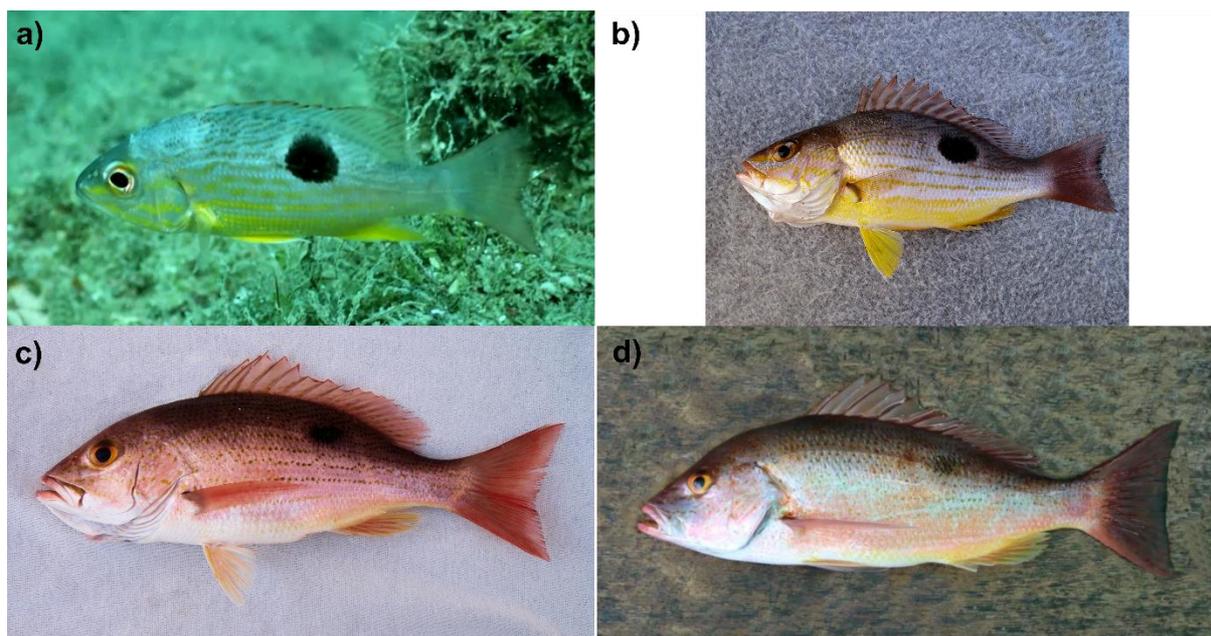


Fig. 2. Diferentes estadios de *Lutjanus guttatus*. a) y b) organismos juveniles, c) y d) organismos adultos, (todas las imágenes fueron tomadas de <https://mexican-fish.com/spotted-rose-snapper/>).

El alimento preferencial del pargo lunarejo son los peces (Rojas, 1997), sin embargo, en algunas partes de su distribución se inclina por consumir en mayor cantidad crustáceos (Rojas *et al.*, 2004), por lo que se le considera un depredador oportunista bentónico, carnívoro y polífago (Suarez, 1992; Suarez & Rubio, 1993; Allen 1985; Maravilla, 2001; Rojas *et al.*, 2004). Su longevidad es de entre 9 a 13.5 años (Andrade, 2003; Sarabia-Méndez *et al.*, 2010), en las costas de México alcanzan su madurez

sexual antes de los dos años. Presentan un desarrollo asincrónico gonadal, así como un desove parcial, la proporción sexual es de 1:1 en México y Costa Rica (Rojas, 1997; Arellano-Martínez *et al.*, 2001; Soto-Rojas *et al.*, 2009; Sarabia-Méndez *et al.*, 2010). Los periodos de máxima reproducción en el estado de Michoacán, México, son durante los meses de abril y agosto mientras que los periodos de reclutamiento comprenden desde noviembre hasta enero y de abril a junio, cuando los organismos alcanzan una talla de 16 cm (Sarabia-Méndez *et al.*, 2010).

La producción pesquera de pargos reportada en el Pacífico mexicano es de un máximo de 4917 toneladas anuales, ya que la carne de los peces adultos es de gran valor. En México únicamente es superado en importancia por su especie congénica *L. peru*, pero en otras regiones como el Salvador es la especie más importante en la pesquería artesanal (Maravilla, 2001), lo cual coincide en países como Costa Rica, Guatemala y Colombia (Rojas, 1997; Vargas, 1999; Olivares & Boza 1999; Valverde & Boza, 1999; Saucedo, 2000; Andrade, 2003). Es importante señalar que al ser un organismo demersal, los juveniles forman parte de la fauna acompañante, sobre todo en la pesca del camarón, lo que podría estar provocando que exista una disminución poblacional, ya que no se permite el adecuado reclutamiento de individuos, y al no conocer la edad conveniente de captura, así como otros factores relacionados con la biología e historia evolutiva, podrían generar una sobreexplotación del recurso pesquero (Amezcuca *et al.*, 2006).

2.2. Uso de marcadores moleculares

El desarrollo de técnicas moleculares para el estudio de la variación genética en las poblaciones ha permitido tener nuevos enfoques en los estudios evolutivos de peces. Los métodos desarrollados hasta la fecha proveen herramientas para el análisis tanto de las relaciones filogenéticas (Hillis *et al.*, 1996), como de la inferencia de procesos demográficos históricos, flujo genético, tamaño efectivo poblacional, secuencia de colonización, cuellos de botella y delimitación de especies (Eguiarte *et al.*, 2007; Chabot *et al.*, 2015; Hernández-Álvarez *et al.*, 2019; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021; Loera-Padilla *et al.*, 2021). Asimismo, el uso de la distribución geográfica de los linajes genealógicos constituye la base para descubrir eventos históricos, como la

fragmentación de hábitat o expansión de su intervalo de distribución, eventos de migración o la extinción de linajes en áreas determinadas (Hardy *et al.*, 2002).

Entre los marcadores más utilizados para realizar estudios poblacionales se encuentran los genes del ADN mitocondrial. El genoma mitocondrial es una molécula circular que contiene 37 genes, 13 de los cuales codifican para proteínas (Miya *et al.*, 2003). Algunas de las características que lo hacen muy útil para los análisis evolutivos son su alta tasa mutacional, herencia matrilineal, y la no recombinación (Awise, 2000; Lanteri & Confalonieri, 2003). Dos de los genes más utilizados son el citocromo *b* (Cyt *b*), ya que este gen presenta una región conservada y otra altamente variable; y el citocromo oxidasa I (COI) que al ser un gen muy conservado es utilizado en el programa de código de barras. Por otro lado, la región control (región no codificante) también es muy empleado, ya que presenta una alta tasa mutacional (Escatel-Luna *et al.*, 2015; Hernández-Álvarez *et al.*, 2019; Torres-Hernández *et al.*, 2022). Los microsatélites son otro de los marcadores empleados para el análisis de las poblaciones. Los microsatélites son fragmentos cortos de ADN de entre 1 y 6 pares de bases (pb), repetidos en tándem y que tiene una amplia distribución en el genoma nuclear (van Oppen, 2000).

Aunque se ha demostrado la utilidad que los marcadores neutrales tienen en los trabajos poblacionales en escalas históricas, se han encontrado limitaciones (sobre todo los genes mitocondriales), para describir los patrones de estructuración genética en especies marinas y particularmente en especies con tamaños efectivos poblacionales grandes, ya que esto limita el efecto de la deriva genética en las poblaciones. Un ejemplo es el grupo de los pargos, ya que trabajos empleando marcadores mitocondriales han mostrado poca o nula diferenciación genética (Hernández-Álvarez, 2015; Hernández-Álvarez *et al.*, 2020; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). Es por esto que el desarrollo de las tecnologías de Secuenciación de Nueva Generación (NGS), ha permitido evaluar de forma más eficiente procesos poblacionales y evolutivos en especies con estas características.

Las tecnologías NGS se refieren a un grupo de protocolos que permiten secuenciar de forma masiva y paralelamente fragmentos de ADN (Baird *et al.*, 2008; Mardis, 2008; Glenn, 2011; Andrews & Luikart, 2014). Particularmente, la obtención de datos

genómicos mediante la tecnología de *Illumina* es la que mayor auge ha tenido en años recientes. Esto se debe a que se realiza una amplificación conocida como “amplificación en puente”, la cual genera una cantidad masiva de secuencias cortas (en promedio 150 bp por secuencia), de una gran cantidad de organismos (Fig. 3). Esto es posible por el uso de una celda de flujo que contiene adaptadores específicos para cada genoteca generada, permitiendo de esta forma que se amplifiquen clústeres o grupos de individuos al mismo tiempo, reduciendo el costo de secuenciación, que era una de las limitaciones más importantes en el inicio de las tecnologías NGS (Andrews *et al.*, 2016).

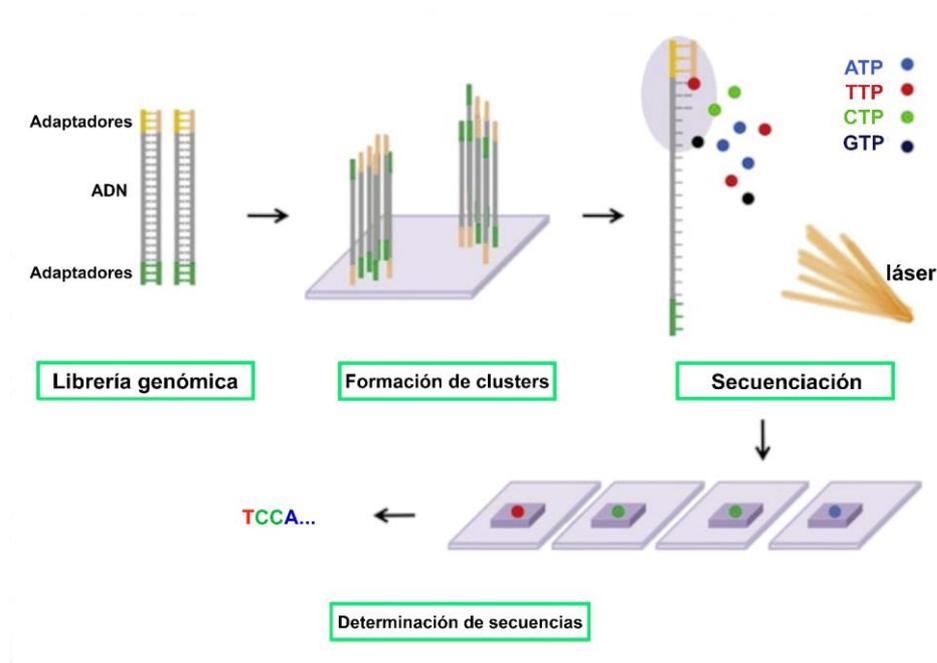


Fig. 3. Esquema general de secuenciación masiva, (tomado de <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/illumina-dye-sequencing>).

Entre los métodos NGS más populares se encuentran los protocolos de “Secuenciación de regiones asociadas a sitios de restricción en el ADN”, conocidos como RADseq (por sus siglas en inglés), en los cuales se emplean enzimas de restricción para fragmentar el genoma (Miller *et al.*, 2007; Baird *et al.*, 2008; Peterson *et al.*, 2012). Su uso generalizado se debe a que no es necesario contar con un genoma de referencia para poder obtener datos genómicos y realizar análisis poblacionales. Además, estas técnicas siguen cuatro pasos fundamentales que las hacen replicables en diferentes laboratorios: 1) Fragmentación del genoma ya sea empleando medios químicos (enzimas) o físicos (ultrasonido), 2) generación de

librerías genómicas, ligando los fragmentos de ADN a oligos específicos, 3) amplificación de fragmentos y 4) secuenciación (Glenn, 2011; Eguiarte *et al.*, 2013). Los métodos RADseq permiten generar marcadores SNPs, los cuales son definidos como polimorfismos o variantes de un solo nucleótido, que se encuentran por miles o millones a lo largo del genoma. Entre las ventajas que presentan estos marcadores está el uso por separado de loci neutrales y aquellos putativamente bajo selección, lo cual nos permite contrastar y analizar a diferentes escalas los procesos evolutivos de las poblaciones (Pecoraro *et al.*, 2018; Bernardi, 2022; Palumbi *et al.*, 2019).

A pesar de que los protocolos RADseq son ampliamente utilizados, estos no están exentos de errores durante los diversos pasos que se llevan a cabo en la realización de las genotecas y su posterior análisis (Mastretta-Yanes, *et al.*, 2015; Paris *et al.*, 2017). Debido a lo anterior, continuamente se buscan protocolos que permitan mitigar estos errores. Como respuesta, una alternativa que ha mostrado tener buenos resultados, es el protocolo 3RAD (Bayona-Vásquez *et al.*, 2019), método en donde se utiliza una combinación de tres enzimas, dos de las cuales son empleadas para la fragmentación del genoma y una más es utilizada en la eliminación de secuencias repetidas (duplicados o quimeras). Durante el paso inicial de la generación de librerías genómicas, las enzimas están activas durante la fragmentación y la ligación de adaptadores, utilizando el mismo buffer, lo cual disminuye los costos de generación de genotecas (Glenn *et al.*, 2019; Bayona-Vásquez *et al.*, 2019).

Durante el proceso de ligación de los fragmentos del genoma, estos son ligados a adaptadores que fueron específicamente diseñados para el método 3RAD (Glenn *et al.*, 2019). De estos adaptadores solo uno presenta un extremo fosforilado, de esta forma se evita la formación de quimeras y artificios generados durante el proceso de PCR, lo cual se complementa con el uso de una tercera enzima que tiene un sitio de reconocimiento similar a una de las otras dos enzimas. Una vez que se eliminan las quimeras y se ligan los adaptadores, se agregan a la librería genómica otros adaptadores para el reconocimiento de la plataforma de *Illumina*. Este proceso tiene como resultado final la formación de librerías que cuentan con una cuádruple indexación (Bayona-Vásquez *et al.*, 2019) (Fig. 4).

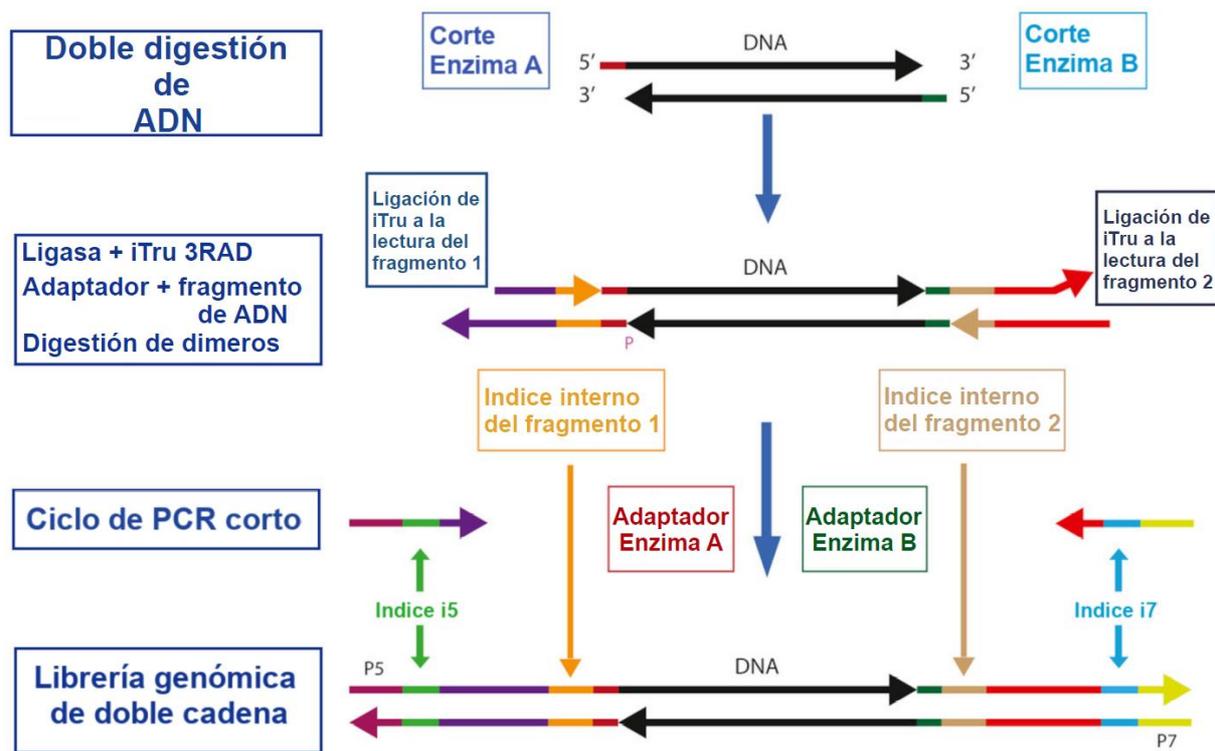


Fig. 4. Esquema general de la elaboración de librerías genómicas mediante el método 3RAD, modificado de Bayona-Vásquez *et al.* (2019).

La captura de secuencias es un método adicional a la construcción de librerías 3RAD que utilizan un conjunto de primers biotinilados conocidos como sondas, las cuales son generados a partir del genoma de la especie que se pretende investigar, las cuales son utilizadas para ‘capturar’ las secuencias de una región en particular del genoma (Gnirke *et al.*, 2009; Hoffberg *et al.*, 2016). La complejidad de estos métodos radica en que es necesario contar con información previa de la especie con la que se va a trabajar (Hoffberg *et al.*, 2016). A pesar de esta esta limitación, trabajos en los que se emplean regiones en particular del genoma han mostrado buenos resultados en el análisis de filogenias de coleópteros (Van Dam *et al.*, 2017), aves (Buainain *et al.*, 2021) e inclusive en peces (Gilbert *et al.*, 2015). Pero desafortunadamente aún hay muy pocos datos de ciertos grupos de especies, como en es el caso de los organismos no modelo.

Sin embargo, la falta de información en organismos no modelo puede ser compensada al utilizar información generada a partir de los métodos RADseq. Con las regiones del genoma obtenida mediante la fragmentación de ADN es posible, por ejemplo, detectar regiones altamente polimórficas que puedan ser utilizadas como pseudo-genomas en los métodos de captura (denominado como “Target enrichment”), y de esta forma

obtener regiones de interés en una gran cantidad de organismos, para de esta forma realizar estudios poblacionales más finos (Gnrke *et al.*, 2009; Saintenac *et al.*, 2011; Faircloth *et al.*, 2012; Tin *et al.*, 2014).

Recientemente se desarrolló un método novedoso que combina la fragmentación del genoma usando enzimas de restricción y la captura de secuencias, el cual se denomina RADcap (Hoffberg *et al.*, 2016). Este protocolo genera miles de loci de cientos de individuos a partir de una región polimórfica del genoma, lo cual la hace repetible y accesible para el análisis de poblaciones que presentan una aparente falta de diferenciación genética. El método RADcap puede dividirse en dos pasos principales. El primero consiste en realizar un experimento piloto para la fragmentación del genoma de la especie en estudio, utilizando un subconjunto de individuos de localidades que abarquen todo el rango de distribución de la especie. La fragmentación se realiza mediante el protocolo 3RAD (Bayona-Vásquez *et al.*, 2019). Una vez secuenciados los individuos, se lleva a cabo un análisis bioinformático con el que se identifican regiones altamente variables, las cuales son utilizadas para desarrollar un set de sondas específicas que serán empleadas en la captura de secuencias. El segundo paso del método consiste en generar librerías genómicas de todos los organismos con los que se pretende trabajar, usando de igual manera el protocolo 3RAD y, usando las sondas generadas previamente, se lleva a cabo la captura de las regiones de interés (Hoffberg *et al.*, 2016).

En el segundo paso, se generan genotecas del total de la población a analizar, siguiendo el protocolo de 3RADs, ligación de adaptadores, pero en este segundo paso hay una modificación importante, que consiste en agregar un primer degenerado (el cual contiene ocho nucleótidos variables (8N)), que nos permitirá distinguir entre las secuencias repetidas y de esta forma evitar errores por una falsa cobertura. Finalmente, las librerías son enriquecidas empleando las sondas generadas y recuperando entre 1000 y 2000 loci polimórficos (Hoffberg *et al.*, 2016). Esta técnica ha contribuido en el análisis más fino de las relaciones filogenéticas del género *Lepidothrix*, que es un grupo de aves nativas de América tropical (Moncrieff *et al.*, 2022). Así mismo ha demostrado ser eficaz en determinar aislamiento genético de dos especies cercanamente emparentadas de salamandras (género *Eurycea*), las cuales presentan un constante flujo genético ya que habitan en zonas de contacto, esta

diferenciación genética recuperada fue asociada a procesos ecológicos que permitieron que las especies se adaptaran a condiciones ambientales específicas (Pierson *et al.*, 2021).

2.3. Patrones de estructuración genética en especies marinas

Los peces marinos por lo general comienzan su ciclo de vida con un estadio de larva pelágica. Este estadio larval ha sido utilizado para evaluar la conectividad y dispersión de las especies en el ambiente marino (Weersing & Toonen, 2009; Munguía-Vega *et al.*, 2018). La duración de la larva pelágica, en conjunto con la intensidad de las corrientes, son factores que determinan la capacidad de dispersión de las especies (Luiz *et al.*, 2013; Green *et al.*, 2015; Munguía-Vega *et al.*, 2018; Reguera-Rouzaud, *et al.*, 2020; Morales-Pulido *et al.*, 2023). Esta capacidad de dispersión juega un papel fundamental en los patrones de estructura genético-poblacional. Debido a esto, si los organismos de una especie son capaces de migrar entre distintas regiones en su zona de distribución, sin que exista una barrera que limite sus desplazamientos, la especie presentará características de panmixia. Por el contrario, si algún factor, ya sea abiótico o biótico, actúa como una barrera que limite el movimiento de organismos, las poblaciones presentarán diferenciación genética, promoviendo de esta forma una estructuración genético poblacional (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Hernández-Álvarez *et al.*, 2020; Morales-Pulido *et al.*, 2023). Además de lo anterior, se ha descrito que la fidelidad a sitios específicos por parte de organismos adultos o juveniles en estuarios o manglares próximos a la costa es otro componente importante en la estructuración poblacional, al limitar o facilitar el flujo de organismos entre distintas poblaciones (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2020; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021).

La evaluación de la magnitud en que estos factores influyen en la fragmentación de las poblaciones, ha sido uno de los objetivos principales en la genética de poblaciones en especies marinas, ya que aparentemente existen pocas barreras físicas que permiten el aislamiento reproductivo de las especies. En el ambiente marino existen barreras que no son tan restrictivas, siendo permeables para algunas especies, y en muchos casos actúan en escalas recientes, a diferencia de aquellas que son evidentes y restrictivas, como es el surgimiento del istmo de Panamá. Entre algunos ejemplos de barreras que se pueden considerar permeables se encuentran las corrientes, las

surgencias, los cambios abruptos de variables oceanográficas como la temperatura, salinidad, la discontinuidad de hábitat o la distancia espacial entre poblaciones (Sandoval-Huerta, 2014; Piñeros & Gutiérrez-Rodríguez, 2017; Piñeros *et al.*, 2018; García de León *et al.*, 2018; Palmerín-Serrano *et al.*, 2021; Torres-Hernández *et al.*, 2022).

De esta forma, con base en la complejidad de las características bióticas y abióticas en el ambiente marino, se han planteado diversos escenarios o modelos que tratan de explicar la estructura genética poblacional de las especies que las habitan. El primer modelo, se basa en la observación general de que las especies tienen una baja o nula estructura genética, indicando que se trata de una población panmíctica (Rocha-Olviarez & Sandoval-Castillo, 2003; Hedgecock *et al.*, 2007), lo cual puede ser debido a una intensa dispersión larval y un efecto limitado de la deriva genética debido a los grandes tamaños efectivos poblacionales que muchas especies presentan (Hedgecock *et al.*, 2007).

Un segundo modelo indica que la conectividad de las poblaciones disminuye al incrementarse la distancia geográfica entre las localidades (Almany *et al.*, 2009; Green *et al.*, 2015), resultando en aislamiento por distancia (IBD por sus siglas en inglés). Este modelo se ha corroborado en el POT en especies con una amplia distribución como los Lutjanidos, en donde se ha encontrado que el IBD influye en la estructuración genética de las especies *Lutjanus peru* y *L. argentiventris* (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). El tercer escenario que explica los patrones de estructuración genética se conoce como “Parches genéticos caóticos”, los cuales indican valores altos de estructuración genética entre sitios sin ninguna relación geográfica o temporal. La alta estructuración genética en este caso se atribuye a factores biológicos de las especies, como puede ser el éxito diferencial en la reproducción de los individuos, lo que permite un patrón distintivo de reclutamiento localizado (Johnson & Black, 1982; Hedgecock & Pudovkin, 2011). Este tipo de patrones es característico de especies con fecundación externa que habitan ambientes heterogéneos. Aunque también estos patrones caóticos pudieran ser atribuidos a otras características como cambios temporales en la dinámica poblacional local, fuerte deriva genética o inclusive la extensión del hábitat (Selkoe *et al.*, 2010; Eldon *et al.*, 2016).

Además de estos tres modelos generales de estructuración genética, recientemente se ha evaluado como las condiciones oceanográficas favorecen la adaptación local, generando variación genética entre las poblaciones (Bernardi, 2022). De esta forma, las características ambientales en el hábitat donde se desarrollan las especies y sus fluctuaciones en el tiempo se relacionan con procesos selectivos, debido a las variaciones en la temperatura o la salinidad, así como las corrientes oceánicas, que son algunos de los factores que más se asocian con estos procesos (Limborg *et al.*, 2012; Bernardi *et al.*, 2018; Bernardi, 2022). La adaptación local permite que los organismos se adecuen a condiciones de su entorno, inclusive si existe migración de organismos de otras localidades. Lo anterior se adecua con el modelo de migración-selección, que nos permite evaluar cuál es el efecto que ambas fuerzas ejercen sobre las poblaciones. Teóricamente este modelo predice que la adaptación local puede ocurrir cuando la selección es más fuerte en relación de la migración (Lenormand, 2002; Ribeiro *et al.*, 2011). La evaluación de este modelo puede resultar complejo en ambientes marinos, ya que procesos como la deriva genética también pueden generar variación en las frecuencias genotípicas (Ribeiro *et al.*, 2011). Sobre todo, en poblaciones pequeñas, se ha observado que la deriva genera pérdida en la diversidad genética de manera azarosa, debido a esto es indispensable analizar datos de marcadores neutrales y adaptativos por separado, para de esta forma determinar el balance entre la migración y selección (Rosenblum *et al.*, 2007).

2.4. Estudios genético poblacionales en especies marinas en el Pacífico Oriental Tropical

La evaluación del grado de conectividad ha permitido determinar en qué medida ocurre el flujo genético y por tanto el nivel esperado de estructura, si existe un constante y elevado flujo, las poblaciones presentan un patrón panmíctico, pero si por el contrario el flujo es mínimo, se genera una diferenciación genética entre las poblaciones (Bernardi *et al.*, 2014; Lessios & Baums, 2017; Hernández-Álvarez *et al.*, 2020).

Diversos estudios se han realizado en el POT con la finalidad de describir los patrones de conectividad. Es así que, en un análisis en el grupo de los pargos, se evaluó la diversidad genética en tres poblaciones (Baja California Sur, Sinaloa y Jalisco) del

pargo rojo *Lutjanus peru*, mediante secuencias de la región control del ADN mitocondrial. En este estudio determinaron altos niveles de diversidad, así como la ausencia de diferenciación genética entre poblaciones, concluyendo que este patrón responde a mecanismos pasivos de transporte de larvas mediado por las corrientes (Rocha-Olivares & Sandoval-Castillo, 2003). Este patrón también se encontró en *Ephinephelus labriformis* y *Opisthonema libertate* (Lessios & Baums, 2017; Pérez-Quñonez *et al.*, 2019), las cuales además presentan altos valores de diversidad genética como fue observado en *L. peru* (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020). En el caso de especies costeras que presentan un periodo de larva pelágica corto, como por ejemplo *Anisotremus interruptus*, se identificó que la disponibilidad del hábitat promueve la conectividad genética (Palmerín-Serrano *et al.*, 2021). La disponibilidad de hábitat también ha mostrado tener efectos, como lo observado en *Lutjanus argentiventris*, especie que debido al uso de manglares como zona de alimentación de organismos juveniles les permite tener un flujo constante de individuos a través de su rango de distribución (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2020).

Sin embargo, la disponibilidad del hábitat y las características oceanográficas del POT han mostrado tener un efecto restrictivo en el flujo genético para otras especies (García de León *et al.*, 2018; Piñeros *et al.*, 2018; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2020). Por ejemplo, la discontinuidad del hábitat en el POT por la presencia de brechas arenosas, ha jugado un papel importante en la estructuración genética en especies que están fuertemente asociadas al arrecife o a un sustrato rocoso, como lo son las especies crípticas *Elacatinus puncticulatus*, *Gobiesox adustus*, así como las especies de los géneros *Malacoctenus* y *Apogon* (Pedraza-Marrón, 2014; Piñeros *et al.*, 2018; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Torres-Hernández *et al.*, 2022), en donde una clara diferenciación genética fue determinada empleando marcadores mitocondriales y nucleares.

No obstante, para especies costeras que no dependen de sustrato arrecifal, las brechas arenosas no representan una barrera que limite el flujo genético, sin embargo, se ha encontrado que otros factores como la distancia geográfica, profundidad de la costa o los gradientes oceanográficos en el POT serían los responsables de promover la estructuración genética de especies costeras. Por ejemplo, en la especie *A. interruptus*, resultados obtenidos utilizando los genes mitocondriales COI y *cyt b*

mostraron una estructura genética marcada entre las poblaciones que se encuentran en las islas del POT con respecto a las del margen continental, lo que demuestra que la profundidad del océano tiene un efecto en la diferenciación genética (Palmerín-Serrano *et al.*, 2021). En cuanto a la distancia geográfica, un estudio poblacional usando microsatélites, determinó que en las especies *L. peru* y *L. argentiventris*, la distancia geográfica si tiene un efecto an la variación genética entre organismos de localidades distantes (mayores a 2500 km) (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). Por otro lado, se ha reportado que los gradientes ambientales que están presentes en el POT parecieran ser más relevantes que la discontinuidad de hábitat para promover la estructuración genética de las especies costeras y pelágicas (García de León *et al.*, 2018; Rodríguez-Zárate *et al.*, 2018; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019). La salinidad y la temperatura son dos de los factores que han mostrado tener un efecto en la diferenciación genética en especies costeras que se distribuyen en el Golfo de California, como se ha reportado en *Merluccius productus* (García de León *et al.*, 2018) (Fig. 5).

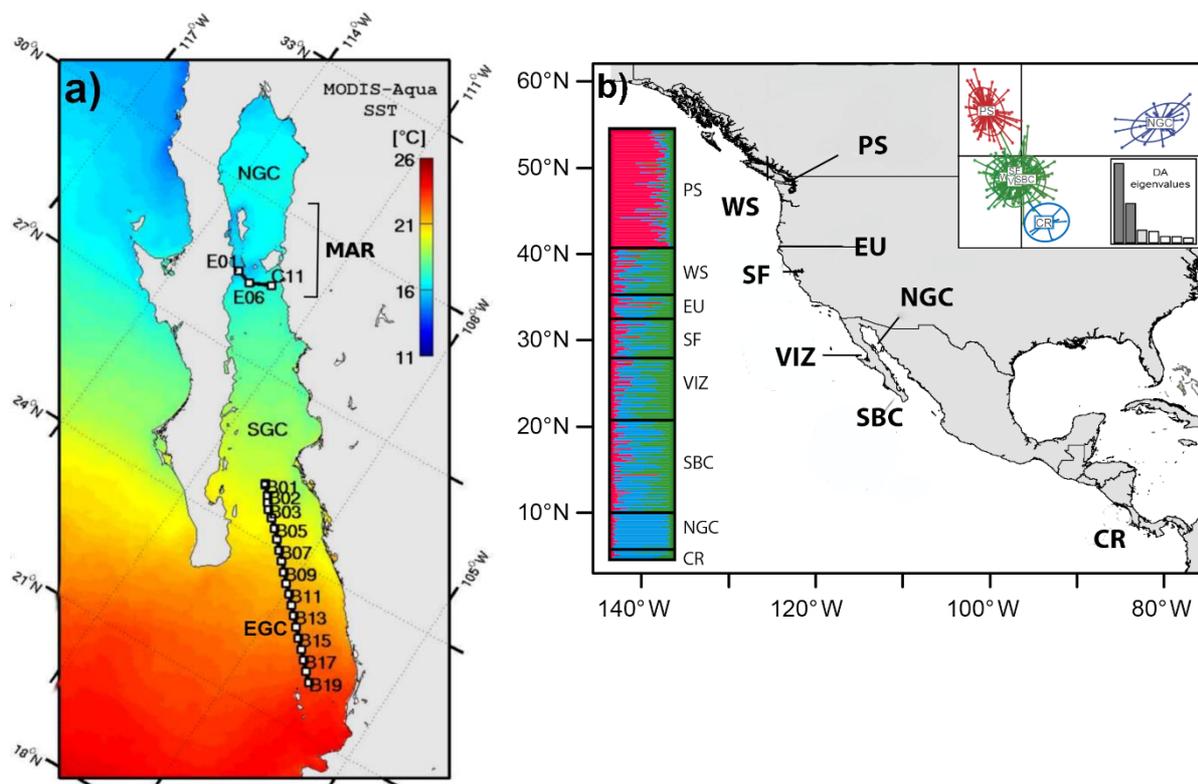


Fig. 5. a) Variación climatológica del Golfo de California (en el periodo de tiempo de 2002-2010). Temperatura superficial del mar (SST), región del archipiélago (MAR), norte del Golfo de California (NGC), sur del Golfo de California (SGC) y entrada del Golfo de California (EGC). b) Resultados de estructura y DAPC que indican una clara diferencia genética en la merluza del pacífico de la zona del norte y sur del Golfo de California (NGC y SBC). Tomado de García de León *et al.* (2018).

Así mismo la región del POT que comprende el Golfo de Panamá presenta gradientes ambientales que se han asociado con variación genética en especies cripticas, como es el caso del gobio cabeza roja (*Elacatinus puncticulatus*), el cual muestra una clara segregación de haplotipos entre las regiones del Golfo de Panamá, Costa Rica, Panamá y Ecuador (Fig. 6). Esta estructuración genética es tan marcada que inclusive podría tratarse de un complejo de especies (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019).

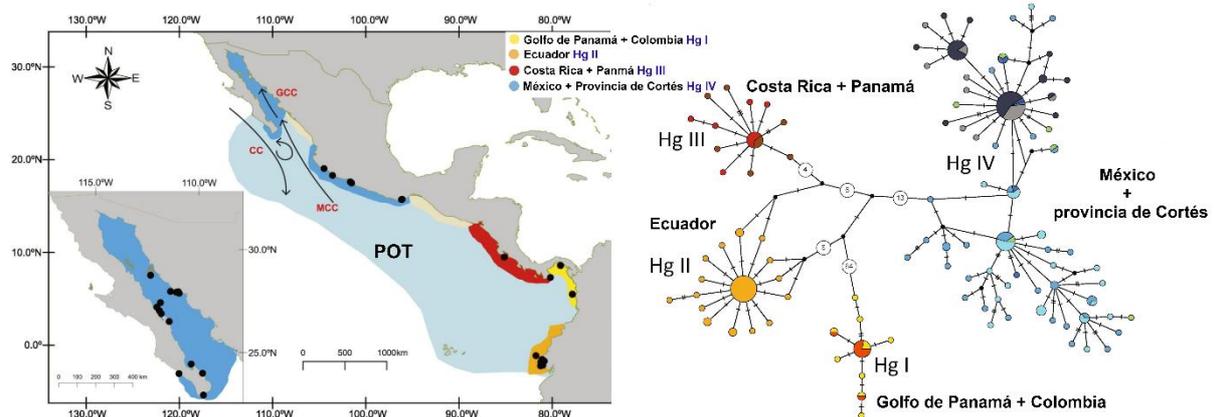


Fig. 6. Distribución y red de haplotipos de *Elacatinus puncticulatus*, modificado de Sandoval-huerta *et al.* (2019). Hg=haplogrupo, POT = Pacífico Oriental Tropical, CC= Corriente de California, MCC= Corriente Costera Mexicana, GCC= Corriente del Golfo de California.

En particular el Golfo de Panamá, al presentar una fuerte variación ambiental, podría estar favoreciendo procesos adaptativos. Esta heterogeneidad ambiental juega un papel muy importante limitando el intercambio de organismos entre diferentes regiones del POT, lo que ha generado diferencias genéticas, las cuales no han sido observadas solamente en peces, sino también en grupos como el de los corales o tortugas (Combosh & Volmer, 2011; Rodríguez-Zárata *et al.*, 2018). El Golfo de Panamá es afectado por la acción de los vientos que promueven el movimiento de masas de agua que generan una marcada variación en la temperatura, así como en el oxígeno disuelto (Huerta-Sandoval *et al.*, 2019), y al mismo tiempo, genera que las corrientes que se encuentran en esta zona sean muy complejas, observándose por ejemplo, en escalas geográficas cortas que las corrientes costeras fomentan la retención de larvas, lo cual juega un papel fundamental en la estructuración genética de las especies.

La retención de larvas pelágicas promovida por la acción de las corrientes en el POT, en conjunto con la variación ambiental, se han relacionado con la estructuración

genética inferida con genes mitocondriales y nucleares en la especie *E. puncticulatus* (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019). Así mismo, la retención de larvas tiene un efecto en la especie en las poblaciones que se encuentran en la provincia de Cortés, lo cual está relacionado con el sistema de corrientes presente en la entrada del Golfo de California (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019). Inicialmente los resultados generados en los trabajos utilizando genes mitocondriales y nucleares indicaban que el efecto del ambiente y de las corrientes parecía influir sobre todo en especies fuertemente asociadas al arrecife o a un sustrato rocoso. Sin embargo, en una evaluación mediante microsatélites de las causas que promovían la estructuración genética en *Lutjanus peru* y *L. argentiventris* (especies costeras), se determinó que tanto las corrientes como los gradientes ambientales propician una diferenciación genética de las poblaciones de *L. peru*, diferenciando genéticamente a las poblaciones de Colombia y Panamá del resto del Pacífico mexicano, inclusive mostrando cierta variación con respecto a localidades al sur de México (Fig. 7) (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021).

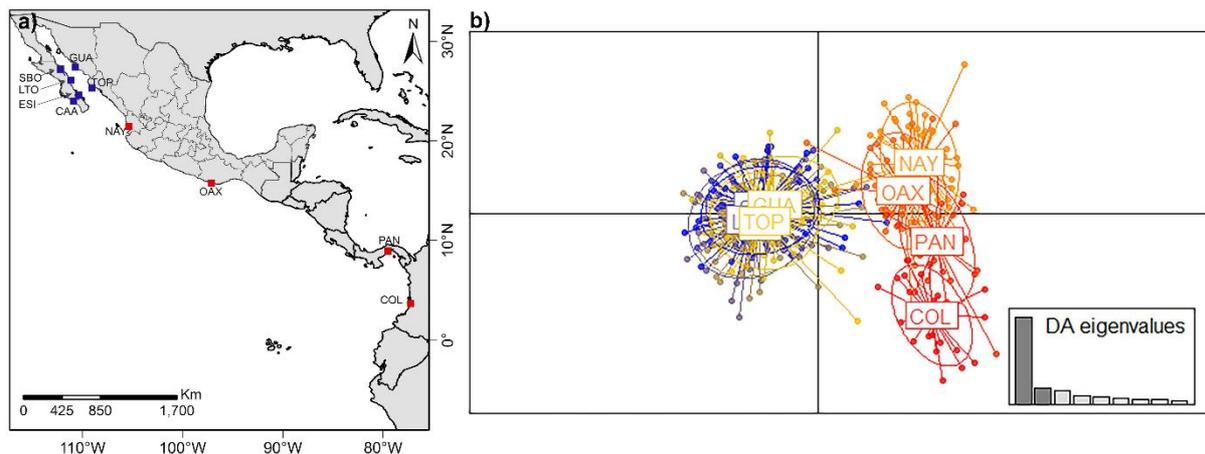


Fig. 7. a) Sitios de colecta de *L. peru* en el POT, modificada de Reguera-Rouzaud *et al.* (2021), en azul se indican localidades dentro del mar de Cortés y Baja California, en rojo localidades de México (Nayarit (NAY) y Oaxaca (OAX)), Centroamérica (Panamá (PAN)) y Sudamérica (Colombia (COL)). b) Análisis de discriminantes de componentes principales (DAPC), se observa una diferenciación de las localidades de PAN y COL.

2.5. Estudios poblacionales empleando SNPs

Las climas ambientales que se generan en el ambiente marino permiten la ocurrencia de procesos de adaptación, los cuales resultaban complejos de analizar debido a las carencias metodológicas. Es por esto que el desarrollo de los protocolos que permiten utilizar marcadores capaces de evaluar el efecto de la adaptación local ha generado un incremento de estudios genómicos poblacionales (Palumbi *et al.*, 2019). Las

tecnologías de secuenciación masiva, o secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés), ha permitido la obtención de miles de marcadores conocidos como Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés). Los SNPs han resultado muy útiles para responder preguntas en distintas escalas evolutivas, tanto ecológicas como históricas. Esto ha sido posible debido a que se puede evaluar tanto loci que estén sujetos a selección mediada por la adaptación, y al mismo tiempo loci bajo el supuesto de la neutralidad. Debido a esto la comparación de la información que nos brindan ambos tipos de datos resulta muy relevante en el estudio de los diversos procesos evolutivos de las especies (Nielsen *et al.*, 2009; Crawford & Oleksiak, 2016; Pecoraro *et al.*, 2018). Además, la evaluación del genoma utilizando SNPs nos permite cuantificar la expresión y variación genética, así mismo el muestreo aleatorio y amplio del genoma que generan los protocolos de fragmentación, nos permiten contar con una mayor certidumbre en la estimación de los tamaños efectivos poblacionales y de la migración (Crawford & Oleksiak, 2016).

Entre los ejemplos de trabajos genómicos encontramos que en el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*), empleando SNPs obtenidos con el método 2b-RAD, se encontraron diferencias en los patrones de diferenciación genética entre SNPs neutrales y aquellos que están sujetos a selección. Los marcadores neutrales determinaron tres clústeres genéticos, mostrando una clara restricción al flujo genético entre los Océanos Atlántico, Índico y Pacífico. Por otro lado, los loci bajo selección mostraron una estructuración genética más fina entre los Océanos Atlántico e Índico, lo cual podría estar relacionado con la heterogeneidad de las variables oceanográficas de ambas regiones. Previamente, utilizando de igual manera marcadores SNPs, se había reportado que las características ambientales también promovieron la variación genética de la especie en el Océano Pacífico (Grewe *et al.*, 2015; Pecoraro *et al.*, 2018).

Una de las regiones que cuenta con una mayor cantidad de estudios empleando metodologías NGS es el mar Mediterráneo, ya que las características oceanográficas presentes en la región lo convierten en un buen modelo para la evaluación del papel que juegan estas variables oceanográficas en los procesos adaptativos. Uno de estos trabajos fue el realizado en el erizo de mar (*Paracentrotus lividus*), empleando SNPs generados a partir del protocolo de GBS (Genotyping by sequence), se realizó una

correlación de la diferenciación genética versus las variables ambientales; los resultados determinaron que existe una fuerte estructuración genética entre las poblaciones del Mediterráneo y el Atlántico, y que esta estructuración se asocia con la salinidad y la temperatura (Carreras *et al.*, 2020). Estas mismas variables tienen un efecto en la estructuración poblacional de la especie *Symphodus ocellatus*, las cuales promueven un proceso adaptativo (Fig. 8) (Torrado *et al.*, 2020). De igual forma un estudio en la especie *Symphodus tinca* determinó que ciertos loci estaban asociados a procesos del ciclo circadiano, lo cual los lleva a concluir que las características ambientales del mar Mediterráneo están favoreciendo un proceso adaptativo en la especie (Carreras *et al.*, 2017).

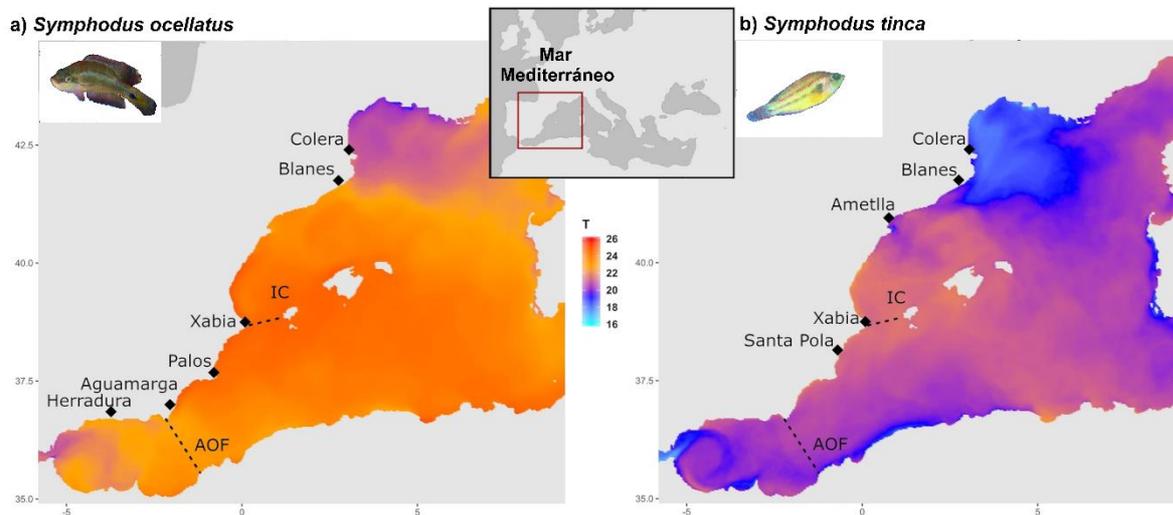


Fig. 8. Localidades dentro del mediterráneo occidental, la barra indica temperatura media de la superficial del mar. a) Gradiente de temperatura durante el periodo de larva para *Symphodus ocellatus*. b) Gradiente de temperatura durante el periodo de larva para *S. tinca*. IC=Canal de Ibiza, AOF=Frente Almería-Oran. Modificado de Torres *et al.* (2020). Fotografías de las especies tomadas de <https://es.wikipedia.org>.

Los estudios empleando marcadores SNPs en el POT son escasos, pudiendo mencionar el realizado en el medregal limón (*Seriola rivoliana*), en donde mediante el protocolo 3RAD se obtuvieron SNPs neutrales con los que se evaluó la estructura genética de la especie a nivel mundial; los resultados indican una clara estructuración poblacional en tres grupos principales siendo estos el Pacífico Central, Pacífico Oriental y el Atlántico Occidental; particularmente en el Pacífico Oriental se encontró una marcada estructuración genética con respecto a los demás clústeres genéticos (Mendoza-Portillo *et al.*, 2020). Este patrón genético fue corroborado recientemente al evaluar la estructura poblacional de la especie en el Pacífico, encontrando una diferenciación de tres clústeres genéticos y separando las localidades del POT, con

respecto de las poblaciones de Pacífico Central y de Cabo San Lucas, en Baja California, siendo la temperatura y salinidad las variables que juegan un papel preponderante en la estructuración genética. Además, se determinó que las presiones antropogénicas por la actividad pesquera, así como el cambio climático representan un riesgo para la especie (Mendoza-Portillo *et al.*, 2023).

En un tercer trabajo realizado en el POT Bernardi (2022), evalúa los efectos que la selección tiene sobre una especie cuando la migración está actuando en la población. Utilizando SNPs generados para la especie endémica de las islas Galápagos *Lythrypnus gilberti* (gobio bonito de las Galápagos). El autor encuentra claras diferencias entre los patrones genéticos obtenidos empleando marcadores SNPs neutrales y bajo selección. Los marcadores neutrales indicaron una falta de diferenciación genética de la población, lo cual es opuesto a los resultados de los marcadores bajo selección, en donde se determinó una clara estructuración genética en dos clústeres, concluyendo que la selección es más intensa que la deriva, y por tanto promueve un evento de selección mediado por adaptación. Por tanto, la diferenciación genética está asociada a factores ambientales en el archipiélago de las Galápagos (Fig. 10).

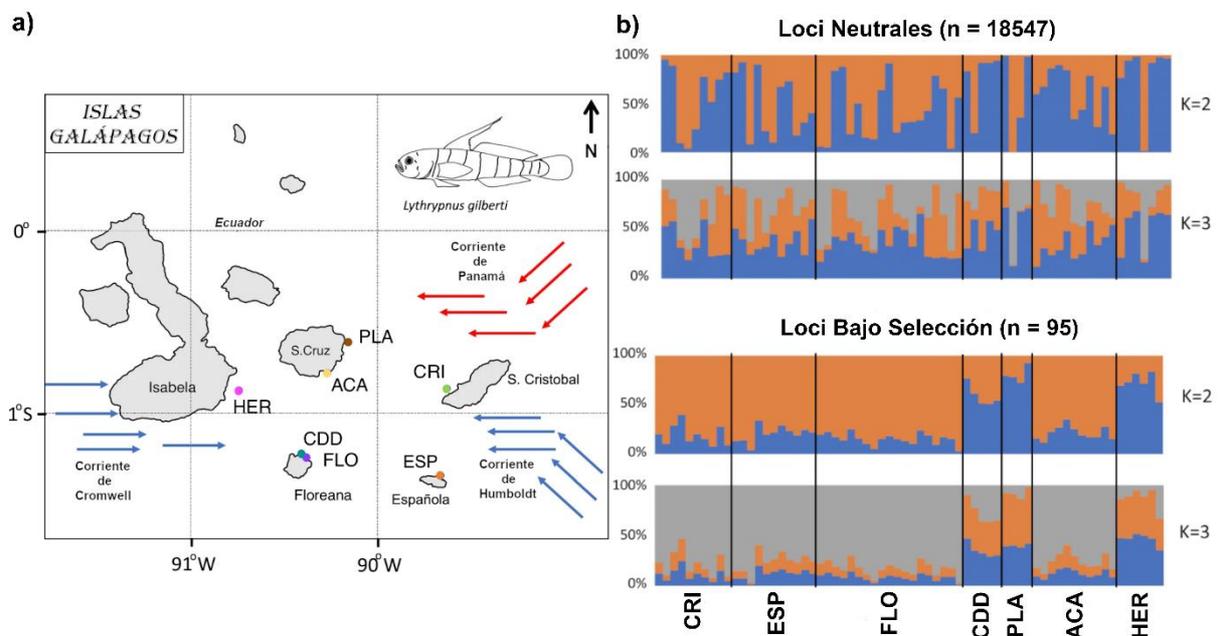


Fig. 9. a) Distribución de *Lythrypnus gilberti* en las Islas Galápagos (CRI=San Cristóbal, ESP=Española, FLO=Floreana, CDD=Corona del Diablo, PLA=Plaza Sur, ACA=Santa Cruz y HER=Los Hermanos). Las corrientes son representadas con flechas. Corrientes frías en azul y corrientes cálidas en rojo. b) Resultados de structure en donde se muestran resultados contrastantes entre los diferentes loci, cada color indica pertenencia a algún grupo genético. Imagen modificada de Bernardi (2022).

Trabajos empleando SNPs en la familia Lutjanidae podemos mencionar el realizado por Pedraza-Marron *et al.* (2019), en donde fue posible delimitar correctamente dos especies del Atlántico occidental, *Lutjanus campechanus* y *L. purpureus*, empleando para este trabajo más de 42000 SNPs. La relevancia de los SNPs queda de manifiesto al considerar que la delimitación de estas especies no había sido posible al emplear solamente genes mitocondriales (Gomes *et al.*, 2012). Así mismo, una reciente evaluación de *L. campechanus* con base en SNPs, determinó que hay una diferenciación genética entre las poblaciones del Golfo de México, con respecto de las poblaciones de la costa de Florida (Portnoy *et al.*, 2022).

2.6. Estudios Poblacionales en *Lutjanus guttatus*

Los estudios poblacionales en *Lutjanus guttatus* se han enfocado en caracterizar aspectos biológicos, como determinación de la edad, crecimiento, mortalidad (Amezcuca *et al.*, 2006; Rojas, 1997), hábitos alimenticios (Rojas *et al.*, 2004), ciclo reproductivo (Arellano-Martínez *et al.*, 2001) y características poblacionales (Sarabia-Méndez *et al.*, 2010); todo esto enfocado en establecer el papel del pargo lunarejo en la estructura y función en el ecosistema, con el objetivo de generar planes de manejo y administración de sus poblaciones (Rojas *et al.*, 2004). Debido a su importancia en las pesquerías y por las presiones a las que está sometida la especie, se ha buscado desarrollar prácticas de acuicultura que permitan la producción en condiciones controladas, esto ha promovido el desarrollo de tecnologías para la investigación de la alimentación en cautiverio, crecimiento de juveniles mediante dietas óptimas y la inducción del desove para la producción de crías (Valverde & Boza, 1999; Olivares & Boza, 1999; García-Ortega, 2009).

Por otro lado, estudios poblacionales empleando marcadores moleculares son pocos, esto a pesar de que la información que puede arrojar este tipo de herramientas es muy importante en la conservación de la diversidad de los stocks pesqueros. Un stock pesquero se define como el conjunto de individuos de una población que pueden ser administrados como unidades discretas y que por lo tanto pueden presentar diferencias tanto biológicas como genéticas, las cuales pueden ser administradas de acuerdo con sus características específicas (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020). Por lo que, para el manejo sustentable de cualquier stock de una especie de importancia

pesquera, se vuelve indispensable conocer la estructura genética poblacional, ya que la variación en la dinámica de la misma repercute en su factibilidad de ser explotado de manera sustentable (Sinclair, 1988).

Entre los trabajos en *Lutjanus guttatus* empleando marcadores moleculares encontramos el realizado en Colombia, en donde se evaluó la variabilidad genética de *Lutjanus guttatus* y *L. argentiventris* en las bahías de Solano, Málaga y Tumaco ubicadas en el Pacífico colombiano, utilizando Microsatélites Amplificados al Azar (RAMs), obteniendo una heterocigosidad esperada de 0.29% y un porcentaje de loci polimórficos del 92% para *L. guttatus*. Así mismo, los valores del índice de diferenciación poblacional (F_{ST}) determinaron la existencia de una alta diferenciación genética entre las tres zonas, lo que se le atribuyó a la capacidad adaptativa que tiene esta especie (López-García, 2012).

En un trabajo filogeográfico de *L. guttatus* en donde se evaluaron poblaciones distribuidas en la costa del POT, empleando la región control de la mitocondria, se determinó que la especie tiene una alta diversidad genética, ya que, de las 166 secuencias analizadas, se encontraron 156 haplotipos (Fig. 10), lo que genera una alta diversidad haplotípica (0.998), y una moderada diversidad nucleotídica (1.8%). En cuanto a la estructuración genética de la especie, los valores de F_{ST} fueron bajos (entre 0.055 a 0.015) y en su mayoría no resultaron significativos (en un rango de $p = 1$ a $p = 0.119$). La única excepción fue la población de El Salvador que presentó valores significativos de diferenciación con cuatro localidades, Todo Santos ($F_{ST} = 0.055$; $p = 0.013$), Santa Rosalía ($F_{ST} = 0.039$; $p = 0.039$), Nayarit ($F_{ST} = 0.023$; $p = 0.019$) y Colima ($F_{ST} = 0.036$; $p = 0.019$). Sin embargo, la conclusión general del trabajo indica que la especie presenta un patrón panmíctico, ya que se trata de una población con un alto flujo genético que permite la homogenización de las poblaciones (Fig. 10). Adicionalmente, se determinó que la especie experimentó una expansión poblacional reciente hace aproximadamente 390 mil años, la cual fue promovida por los ciclos interglaciares durante el Plesitoceno. Así mismo, se determinó que en la provincia Panámica (región que comprende desde la entrada del Golfo de California hasta Perú) la especie atravesó un cuello de botella (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020).

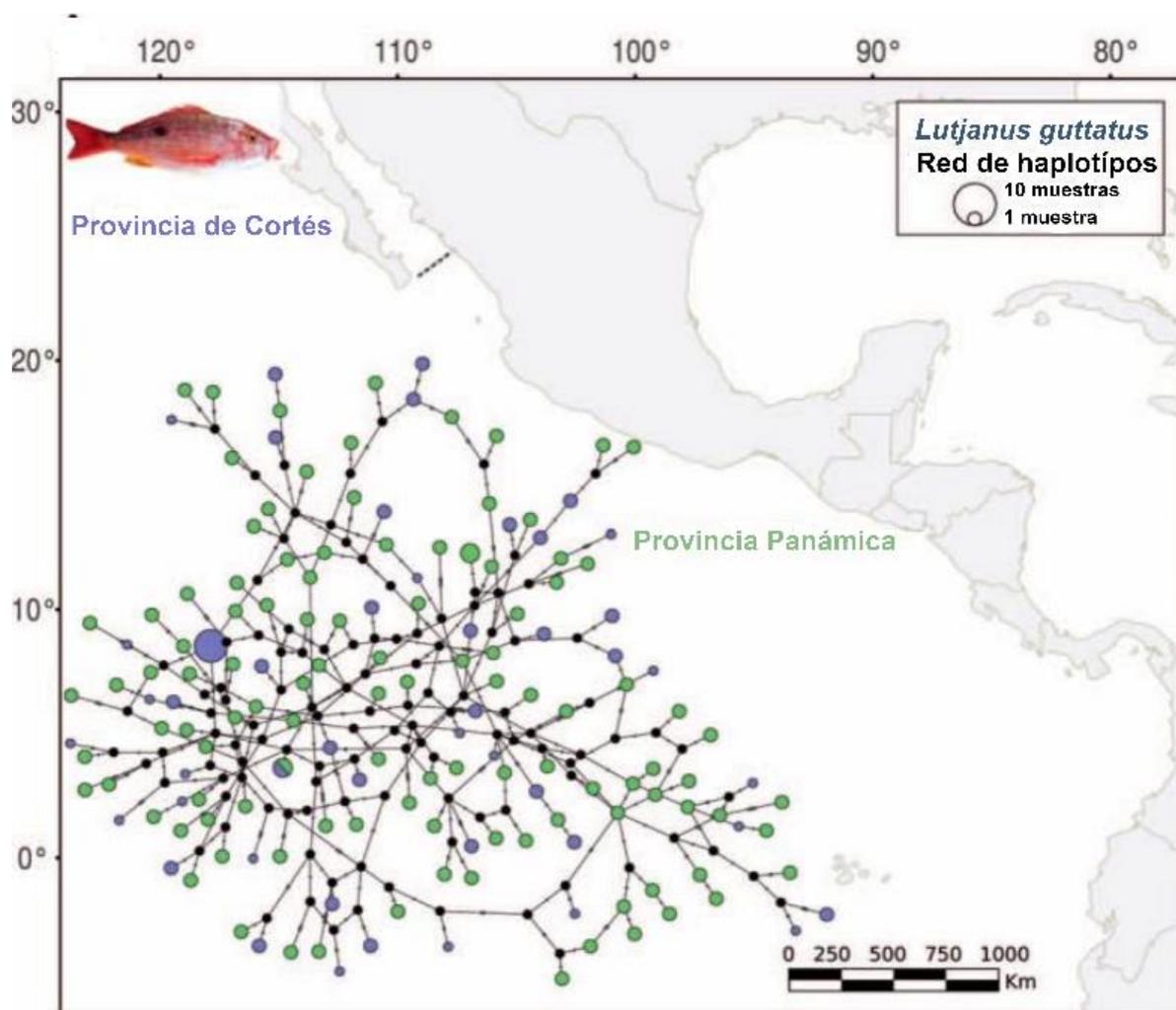


Fig. 10. Red de haplotipos de *Lutjanus guttatus* basado en D-loop, Provincia de Cortés en verde, Provincia Panámica en morado. Imagen modificada de Hernández-Álvarez *et al.* (2020).

Recientemente, el patrón de panmixia fue corroborado en un estudio donde se emplearon 12 microsatélites y se analizaron 186 individuos de localidades que abarcaban desde Baja California hasta Panamá; recuperando todos los análisis una homogeneidad genética en las poblaciones (Díaz-Viloria *et al.*, 2023).

III. AREA DE ESTUDIO

3.1. El Pacífico Oriental Tropical

La región biogeográfica del Pacífico Oriental Tropical (POT) (Briggs, 1974) se extiende desde la parte sur de Bahía Magdalena (~24 °N), pasando por todo el Golfo de California y llegando hasta Cabo Blanco (4°S) al norte de Perú (Fig. 11). La región incluye cuatro conjuntos de islas oceánicas, el archipiélago de Revillagigedo, Clipperton, Cocos, Malpelo, así como el archipiélago de las Galápagos (Robertson & Allen, 2015). Los límites continentales al norte y al sur de la región están definidos por las corrientes frías que fluyen hacia el Ecuador desde los polos a lo largo de las costas continentales que se alejan de la costa hacia el Pacífico central (Glynn & Ault, 2000; Robertson & Allen, 2015), siendo su límite occidental la barrera del Pacífico Oriental, la cual tiene una extensión de 5000 km de océano profundo que separa la isla más occidental (Clipperton) con la más cercana de las islas del Pacífico Central, las Islas Line (Fig. 11) (Robertson *et al.*, 2004).



Fig. 11. Mapa del Pacífico Oriental Tropical (POT), incluyendo las tres islas y dos archipiélagos. Modificada de: https://en.m.wikipedia.org/wiki/File:Tropical_Eastern_Pacific_Region.png.

El POT presenta un litoral costero rocoso el cual es interrumpido por dos grandes extensiones de costa arenosa, la brecha de Sinaloa y la brecha Centroamericana. Además, la región se caracteriza por contar con un complejo sistema de corrientes, como se mencionó anteriormente al norte y sur el POT es delimitado por las corrientes de agua fría de California y la de Humboldt (Robertson & Allen, 2015; Fiedler & Lavín, 2017). En cuanto a la región central del POT, la complejidad del sistema de corrientes se debe sobre todo a las características geográficas del continente americano con las que está en contacto, así como el efecto que generan los cambios temporales en los vientos promovidos por la variación de las condiciones locales (Fiedler & Lavín, 2017). Es por esto que los patrones de circulación y la velocidad de las corrientes son influenciados por las condiciones locales que presentan los vientos. Por ejemplo, los patrones hidrográficos que se encuentran en la región comprendida entre México y Perú están dadas por la influencia del esfuerzo que generan los vientos en esta región meridional.

Entre las principales corrientes del POT se encuentran la Corriente Costera de Costa Rica (CRCC), la Corriente Costera Mexicana (MCC), la Contra Corriente Norecuatorial (NECC), la Corriente Norecuatorial (NEC) y la Corriente Ecuatorial del Sur (SEC) (Fig. 12) (Muss *et al.*, 2001; Kessler, 2006; Fiedler & Lavín, 2017). Estas corrientes varían en cuanto a intensidad y posición a lo largo del año, durante el mes de marzo, por ejemplo, la NEC se sitúa entre los 8° y 10° N, siendo su velocidad de 20 cm s⁻¹, y representando el límite norte del sistema de circulación anticiclónica del Istmo de Tehuantepec (Kessler, 2006); así mismo, la NECC se encuentra ausente y la SEC se encuentra en su posición más sureña. Por el contrario, durante septiembre la NEC se vuelve más débil y la NECC es influenciada por la termoclina generada por la Zona de Convergencia Intertropical (ITCZ, por sus siglas en inglés), finalmente SEC presenta una mayor fuerza (aproximadamente 4 cm s⁻¹) y abarca desde los 7° S hasta cerca de los 3° N (Fiedler & Lavín, 2017).

En cuanto a la distribución vertical de las corrientes, encontramos a la Corriente Ecuatorial (EUC) y los jets Tsuchiya del sur, éstas corrientes fluyen hacia el este y son influenciadas por el gradiente de presión generados por la inclinación de la termoclina ecuatorial. El desplazamiento de masas de agua promovido por las corrientes, genera zonas altamente productivas promovidas por la orografía del continente y el efecto de

los vientos alisios, tres de las surgencias más importantes generadas en la región son las que se producen en el Golfo de Papagayo, en la Ensenada de Panamá y en la zona de Tehuantepec, en donde los gradientes generan un complejo y heterogéneo ambiente (Wang & Fiedler, 2006; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019).

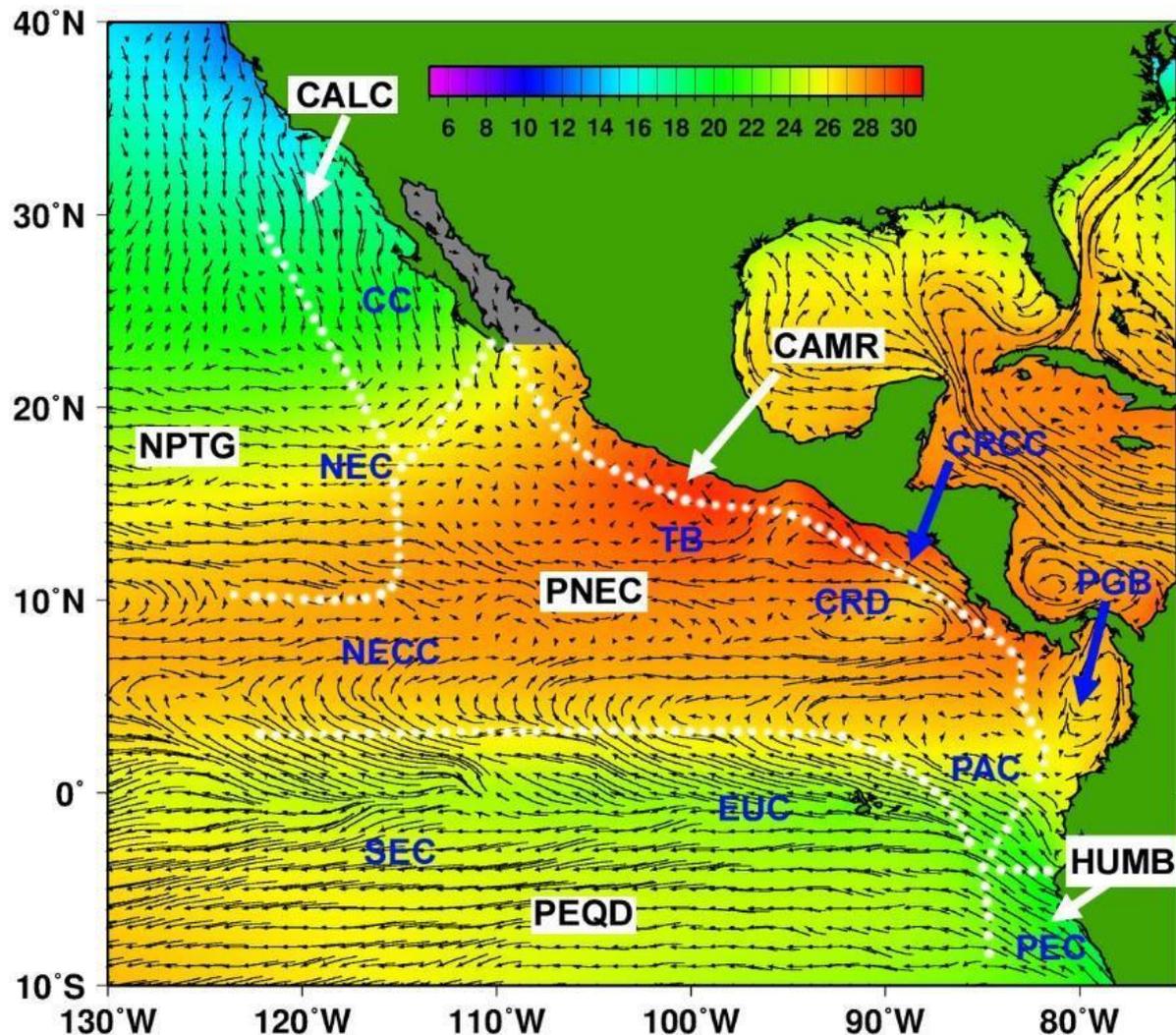


Fig. 12. Principales corrientes del Pacífico oriental Tropical. CC=Corriente de California, NEC=Corriente Norecuatorial, TB=Cuenco de Tehuantepec, NECC=Contracorriente Norecuatorial, CRD=Domo de Costa Rica, CRCC=Corriente Costera de Costa Rica, SEC=Contracorriente Surecuatorial, EUC=Corriente Subsuperficial Ecuatorial, PAC=Corriente de Panamá, PGB=Giro de la Ensenada de Panamá, PEC=Corriente Peruana. La barra de colores en la parte superior de la imagen indica la temperatura superficial del mar. Tomada de <https://biogeodb.stri.si.edu/sfstep/es/pages>.

3.2. Regionalización del Pacífico Oriental Tropical

Las características físicas y oceanográficas del POT, en conjunto con la distribución de las especies, han sido empleadas para determinar patrones biogeográficos dentro de la región. Así, por ejemplo, el nivel de endemismos es uno de los elementos que se ha utilizado para diferenciar entre provincias. Briggs, (1974) asignó un valor mínimo

de endemismo (10%) para poder considerar a una región con una identidad taxonómica propia y, por tanto, como una región biogeográfica bien diferenciada. Hasting, (2000) basado en un estudio filogenético de la familia Chaenopsidae, reconoce cuatro provincias biogeográficas en el POT, considerando la existencia de tres provincias para la costa continental (Cortez, Mexicana y Panámica) además de la provincia de Galápagos. En cuanto al nivel de endemismo, en conjunto las provincias de Cortez y la Panámica son las que presentan un mayor valor de hasta el 50% de endemismo de la familia Chaenopsidae, por otro lado, la provincia mexicana presenta el valor de endemismo más bajo (10%), por lo que considera a esta como una zona de transición. De igual forma, los hábitats costeros se han utilizado para delimitar las provincias propuestas por Hasting, (2000). Es por esto que la presencia de dos zonas arenosas que interrumpen el continuo de la costa rocosa del POT (la brecha de Sinaloa y la brecha centroamericana) se han empleado para soportar la hipótesis de la presencia de tres provincias biogeográficas. Así mismo, se ha descrito que ambas brechas funcionan como barreras que limitan el flujo genético (Hasting, 2000; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Torres-Hernández *et al.*, 2022). El efecto en la estructuración genética que presentan las brechas se ha evaluado sobre todo de especies fuertemente asociadas a los arrecifes rocosos, como lo inferido mediante genes mitocondriales y nucleares en la familia Chaenopsidae, en las especies del género *Apogon*, en el gobio cabeza roja (*Elacatinus puncticulatus*), o en la especie arrecifal criptobentónica *Tomicodon petersii* (Hasting, 2000; Piñeros *et al.*, 2018; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Torres-Hernández *et al.*, 2022).

Sin embargo, esta regionalización no es aplicable para todos los grupos. Robertson & Cramer, (2009) utilizando más de mil especies de peces costeros reconocen dos provincias para la costa continental, siendo estas la de Cortez y Panámica, además de las islas oceánicas, en el caso de Galapagos, no se diferencia como una provincia particular y diferenciada del resto de las islas que se encuentran en la región, aunque en su conjunto, las islas sí se pueden diferenciar en islas al norte y sur. La diferenciación genética de las especies entre las poblaciones de la costa continental y las islas ha sido observada en la especie *Anisotremus interruptus*, en donde resultados obtenidos mediante marcadores mitocondriales diferenciaron al archipiélago de Revillagigedo (grupo norte) de las islas de Coco y el archipiélago de las Galapagos (grupo sur), así como el grupo continental, corroborándose de esta

forma que las islas son una región biogeográfica diferenciada de la costa (Robertson & Cramer, 2009; Palemerín-Serrano *et al.*, 2021). Por otro lado, las brechas arenosas no mostraron ningún efecto en la diferenciación genética de *Anisotremus interruptus*, esto indicaría que la población continental presenta un patrón panmítico y por tanto hay un constante flujo de organismos entre las provincias de Cortez y Mexicana (Palmerín-Serrano *et al.*, 2021). Un patrón panmítico y sin diferenciación genética entre las provincias de la costa continental en el POT se ha asociado a la duración de la larva pelágica y el efecto de las corrientes, que permiten homogenizar a las poblaciones de distintos grupos de peces. Poblaciones panmíticas se han inferido en diversas especies del grupo de los pargos, lo que estaría indicando que las posibles barreras físicas presentes en el POT no limitan el flujo genético y por tanto se trata de poblaciones homogéneas, (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2020; Díaz-Viloria *et al.*, 2023).

En especies costeras se ha encontrado que factores ambientales podrían estar influenciando en mayor medida a las especies particularmente a los pargos (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021), por lo que determinar que variables ambientales están jugando un rol en la diferenciación de las especies costeras resulta necesario. De acuerdo a las características climáticas, el POT está dividido en 3 zonas, la ecuatorial, tropical y subtropical (Robertson & Allen, 2015). Particularmente la sección ecuatorial (que abarca desde Costa Rica hasta Panamá), representa una compleja e interesante zona para la evaluación de procesos adaptativos, debido a las corrientes (por ejemplo, el giro de la bahía de Panamá) y los fuertes gradientes oceanográficos (variación en la temperatura al largo del año) presentes en la región. Dentro de la sección ecuatorial encontramos el Golfo de Panamá, el cual ha mostrado ser una zona que contribuye en la diferenciación genética de diversos grupos marinos (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). Lo anterior ha sido promovido por la acción restrictiva de las corrientes como el giro de la Bahía de Panamá, así como, los gradientes de temperatura o salinidad, los cuales limitan el intercambio de individuos entre la zona norte y sur del POT (García de León *et al.*, 2018; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021).

3.3. El Golfo de Panamá y zona norte del POT

El Golfo de Panamá se extiende hacia el oeste desde la costa de Panamá hasta Ecuador cerca de los 81 °W (Fig. 13) (Rodríguez-Rubio *et al.*, 2003). La circulación en la Bahía de Panamá está fuertemente influenciada por los vientos (Strub & James, 2002), los cuales responden a la posición de la Zona de Convergencia Intertropical (ITCZ), que de junio a septiembre se ubica en la parte norte de la bahía (Forsberg, 1969; Waliser & Gautier, 1993), lo que ocasiona que el esfuerzo del viento para casi toda la bahía sea predominantemente de dirección sursuroeste-suroeste, lo que genera una circulación anticiclónica moderada, con una corriente costera que fluye hacia el sur (Strub & James, 2002). Durante el invierno boreal la ITCZ se mueve hacia el sur, alcanzando su posición más al sur en febrero y marzo (Forsberg, 1969). Manteniendo el patrón de circulación anticiclónico en los meses de enero a septiembre, con una intensidad moderada durante los meses de primavera y verano (Rodríguez-Rubio *et al.*, 2003).

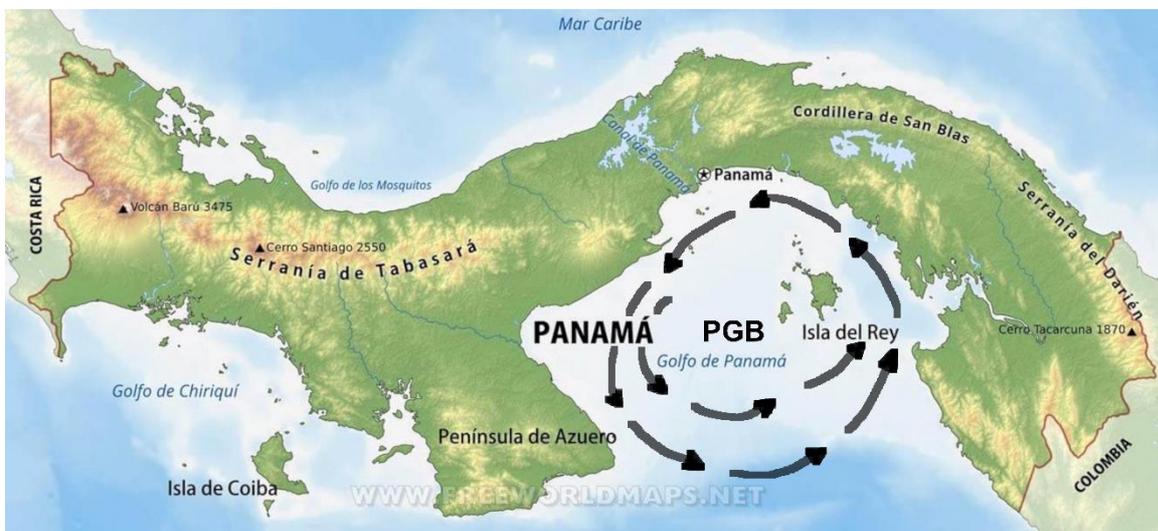


Fig. 13. Golfo de Panamá, la principal corriente se representa con flechas grises. PGB=Giro de la ensenada de Panamá. Modificado de: https://www.ecured.cu/Golfo_de_Panam%C3%A1.

Este patrón de circulación cambia en intensidad y se convierte en ciclónico durante parte del invierno, comenzando en el mes de octubre e intensificándose en noviembre, este cambio es provocado por el efecto de los vientos o “Panama Jet” inducido por el movimiento de la ITCZ (Chelton *et al.*, 2000; Rodríguez-Rubio *et al.*, 2003; Lavín *et al.*, 2006). El patrón anticiclónico encontrado en Panamá concuerda con el periodo de reproducción de *Lutjanus guttatus* (Hernández-Álvarez, 2015), por lo que el

movimiento de larvas entre las localidades de Panamá, Colombia y Ecuador explicaría los patrones de similitud genética encontrados entre estos tres países. Una situación similar fue la reportada por Sandoval-Huerta *et al.* (2019) en el caso de los efectos de las discontinuidades del hábitat y la variabilidad ambiental local en la historia evolutiva del gobio *Elacatinus puncticulatus* en el POT. Los afloramientos promovidos por la acción de los vientos que se generan en el Golfo de Panamá hacen que exista una variación en la temperatura, la cual decrece hasta 10 °C durante el período de afloramiento (Gonzalez & D´Croz, 2007), esto genera que en esta zona haya una marcada heterogeneidad ambiental.

Hacia el norte la situación es más compleja por la existencia de fuertes discontinuidades hidrodinámicas que representan las zonas de surgencias de Papagayo y Tehuantepec (Monreal Gómez *et al.*, 1999). En la zona norte del POT se encuentra la Corriente Costera de Costa Rica, que es una de las más importantes del Pacífico Oriental Tropical, durante los meses de junio y agosto esta corriente alcanza las costas del Golfo de California (Robertson & Allen, 2015). En fechas recientes se ha puesto en duda la continuidad de la Corriente de Costa Rica hasta la parte centro-norte del Pacífico mexicano, por lo que se renombró la corriente localizada frente a la costa mexicana entre el Golfo de Tehuantepec y el Golfo de California como Corriente Costera Mexicana (CCM), (Kessler, 2006; Lavín *et al.*, 2006). Sin embargo, Reyes-Hernández *et al.* (2016) muestran alguno de los mecanismos que permiten el paso de la Corriente Costera de Costa Rica por el Golfo de Tehuantepec. Así mismo, los resultados obtenidos con un modelado tridimensional de corrientes muestran que la corriente de Costa Rica se extiende más allá de lo reportado previamente (Salas de León, D.A. comunicación personal, 2022), lo cual podría promover la homogenización genética encontrada entre las localidades del Golfo de California y las poblaciones de centroamérica.

IV. JUSTIFICACION

El pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) es una especie ampliamente distribuida a lo largo del Pacífico Oriental Tropical, mostrando un patrón panmítico de acuerdo con resultados previos obtenidos mediante marcadores neutrales. Sin embargo, dada su amplia distribución en el POT, así como su dispersión mediada principalmente por deriva larvaria, se esperaría un patrón de aislamiento por distancia que no ha sido totalmente analizado. En adición, la heterogeneidad del hábitat en el Pacífico Oriental Tropical podría generar patrones genéticos relacionados con adaptación local. Por lo que el evaluar el papel que juegan los factores oceanográficos en un contexto evolutivo más reciente resulta indispensable. En este sentido, el desarrollo de los protocolos NGS y en particular los SNPs bajo selección nos brinda la oportunidad de estudiar la variación genética que se debe a los procesos adaptativos. Por lo que sopesamos que el contrastar resultados de SNPs, tanto neutrales como bajo selección, nos permitirá entender el papel que han jugado los diferentes procesos evolutivos en determinar la diversidad genética en las poblaciones de *L. guttatus*. Así mismo, consideramos que podremos brindar información acerca de los factores que contribuyen en la diferenciación genética en la especie. Finalmente, esperamos que los resultados generados en el presente estudio puedan ayudar en el manejo de la especie, la cuál es un recurso ampliamente explotado en México, pero que se debe de administrar de manera sustentable.

Por tanto, el presente proyecto persigue realizar un estudio poblacional a lo largo de la distribución de la especie *L. guttatus* en la costa continental del POT empleando marcadores SNPs, empleando tanto loci neutrales como loci sujetos a selección. Particularmente, los SNPs bajo selección nos permitirán evaluar, si existe algún factor ambiental que este jugando un papel preponderante en la distribución espacial de la variación genética poblacional de *L. guttatus* en el Pacífico Oriental Tropical. Así mismo pretendemos determinar si la distancia geográfica tiene algún efecto en las poblaciones de la especie.

V. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

5.1. Pregunta general

¿Existe diferenciación genética entre las poblaciones de *Lutjanus guttatus* a lo largo del Pacífico Oriental Tropical?

5.2. Preguntas específicas

¿Los factores oceanográficos en el POT contribuyen en la diferenciación genética de la especie?

¿La selección mediada por la adaptación a variables ambientales está actuando sobre las poblaciones de *L. guttatus*?

¿Hay factores que promueven la interrupción al flujo genético o por el contrario existe un constante flujo entre poblaciones de *L. guttatus* en el POT?

¿Existe aislamiento por distancia en *L. guttatus*?

¿Han ocurrido fluctuaciones en el tamaño de las poblaciones en la especie?

VI. HIPOTESIS

Debido a la amplia capacidad de dispersión que ha sido descrita a partir de estudios con ADN mitocondrial, y debido a que las condiciones oceanográficas del Pacífico Oriental Tropical son un factor a considerar en la aparición de procesos de selección adaptativa, una aproximación genómica hará posible evaluar la existencia de divergencia genética y su relación con factores ambientales en las poblaciones de *Lutjanus guttatus*, a pesar del efecto que el flujo genético ejerce sobre la especie.

VII. OBJETIVO GENERAL

Determinar si las condiciones ambientales en Pacífico Oriental Tropical están actuando sobre las poblaciones de *Lutjanus guttatus* promoviendo procesos adaptativos a lo largo de la distribución de la especie.

7.1. Objetivos específicos

- Describir y cuantificar la variabilidad genética dentro y entre las poblaciones de *L. guttatus* en el Pacífico Oriental Tropical.
- Analizar si existe una señal de estructura genética poblacional en loci neutrales o adaptativos.
- Estimar el grado de conectividad entre las poblaciones y su relación con la separación espacial de las mismas.
- Determinar la demografía histórica y su relación con la biología, ecología, así como con posibles cambios climáticos del pasado.
- Estimar el tamaño efectivo poblacional de *L. guttatus* en el POT.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. Colecta y registros

Se realizaron jornadas de campo desde 2010 hasta 2015 a lo largo de todo el rango de distribución de la costa continental del POT para colectar una porción de aleta o musculo de 192 individuos de la especie *L. guttatus* (Fig. 14, Tabla 1). Algunos organismos se colectaron utilizando equipo de Buceo Autónomo (SCUBA), así mismo se visitaron mercados en donde organismos provenientes de la pesca artesanal fueron muestreados. Los organismos colectados mediante SCUBA fueron fijados empleando formol al 5% y posteriormente se colocaron en la Colección de Peces de la Universidad Michoacana (CPUM; Registro: PEC-227-07-09).

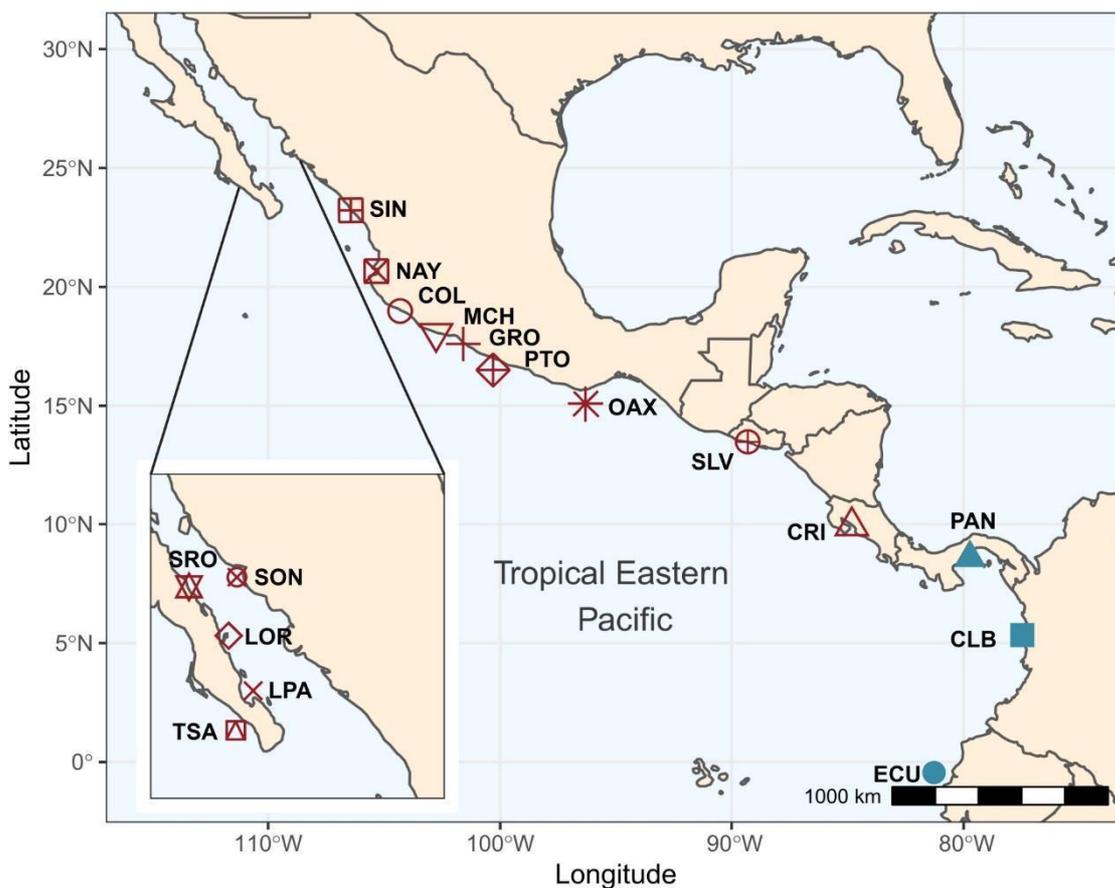


Fig. 14. Sitios de muestreo de *Lutjanus guttatus* a lo largo de la costa continental del POT. SRO=Santa Rosalia, SON=Sonora, LOR=Loreto, LPA=La Paz, TSA=Todos Santos, SIN=Sinaloa, NAY=Nayarit, COL=Colima, MCH=Michoacán, GRO=Guerrero, PTO=Partidito, OAX=Oaxaca, SLV=El Salvador, CRI=Costa Rica, PAN=Panamá, CLB=Colombia, ECU=Ecuador.

Se tomó una muestra de tejido, el cual podía ser un trozo de aleta pectoral, o bien una porción de músculo. Las muestras de tejido fueron colocadas en criotubos con alcohol grado analítico al 70%, todas las muestras fueron almacenadas en el laboratorio de Genética de Organismos Acuáticos, en el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología y en la colección de tejidos del Laboratorio de Biología Acuática de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Los siguientes permisos fueron utilizados para la colecta de los organismos: México (PPF/DGOPA-035/15; SGPA-DVG-02920/15 y F00.DRPBCPN.DIR.RBAR-100/2015-CONANP), el Salvador (MARN-AIMA-004-2013), Panamá (SC/A-17-19), Costa Rica (007-2013-SINAC y R-056-2015-OT-CONAGEBIO) y Ecuador (013/2012 PNG; N° 21-2017-EXP-CM-2016-DNB/MA y MAAE-DBI-CM-2021-015).

Tabla 1. Sitios de colecta de los 192 individuos utilizados en el presente trabajo.

Localidad	Acrónimo	No. de muestras	País	Grupo	Longitud	Latitud
Santa Rosalía	SRO	13	México	Norte	-112.24	27.33
Sonora	SON	11	México	Norte	-110.85	27.86
Loreto	LOR	3	México	Norte	-111.32	26.01
La Paz	LPA	2	México	Norte	-110.32	24.18
Todos Santos	TSA	6	México	Norte	-110.25	23.45
Sinaloa	SIN	19	México	Norte	-106.43	23.22
Bahía Banderas	NAY	15	México	Norte	-105.34	20.65
Colima	COL	13	México	Norte	-104.32	18.98
Michoacán	MCH	11	México	Norte	-102.76	18.06
Guerrero	GRO	15	México	Norte	-101.59	17.6
Partidito	PTO	3	México	Norte	-100.14	16.94
Oaxaca	OAX	7	México	Norte	-96.3	15.68
Guatemala	GUA	17	Guatemala	Norte	-91.91	14.28
Salvador	SLV	9	El Salvador	Norte	-89.3	13.48
Costa Rica	CRI	11	Costa Rica	Norte	-84.81	9.93
Panamá	PAN	14	Panamá	Sur	-79.73	8.59
Choco	COL	9	Colombia	Sur	-77.46	5.35
Manabí	ECU	14	Ecuador	Sur	-80.86	-1.28
Total		192				

8.2. Trabajo de laboratorio

La extracción de ADN se llevó a cabo mediante el método convencional proteinasa K/fenol/cloroformo (Hillis *et al.*, 1996). Una vez realizada la extracción de ADN se visualizó en gel de agarosa al 1.5%. El ADN total fue cuantificado, primero en un equipo NanoDdrop para obtener los valores de calidad de absorbancia 260/280 y 260/230, los cuales nos permiten saber si la muestra está contaminada con algún compuesto orgánico, sales, o alguna proteína. Una segunda cuantificación fue realizada con Qubit, ya que el Nanodrop suele sobreestimar la concentración por la presencia de compuestos distintos al ADN. Todas las muestras fueron estandarizadas a una concentración de 20 ng/μl considerando los valores de concentración obtenidos con Qubit.

8.3. Elaboración de librerías genómicas

La preparación de las librerías genómicas se realizó siguiendo el protocolo de fragmentación del genoma y captura de secuencias RADcap (por su nombre en inglés). El primer paso de la genoteca consistió en la elaboración de 15 librerías genómicas de individuos de nueve localidades que fueron representativas del total de la zona de distribución de *L. guttatus* (Tabla 2). Las genotecas fueron elaboradas siguiendo el protocolo 3RAD (Bayona-Vásquez *et al.*, 2019), la digestión del ADN se realizó usando tres enzimas de restricción (BamHI, ClaI y MspI), las cuales producen cortes cohesivos. El ADN fragmentado se ligó a adaptadores de Illumina desarrollados específicamente para este método (Glenn *et al.*, 2019), para promover la ligación de los adaptadores se empleó la enzima de ligación T4, sin degradar las enzimas de restricción, estos adaptadores son ligados a dos de las enzimas usadas. La tercera enzima es utilizada para eliminar duplicados en el proceso de PCR, esto se debe a que se recrean los sitios de cortes enzimáticos los cuales no cuentan con adaptadores ligados que son por tanto reconocidos por la tercera enzima, siendo de esta forma removidos. Para lograr esto, se promueve mediante la temperatura la digestión de las quimeras y los dímeros de productos sin adaptadores (Bayona-Vásquez *et al.*, 2019).

Una vez terminada la ligación se realizó una limpieza de los productos empleando perlas magnéticas (SpeedBeads), posteriormente se completó la secuencia del

adaptador, llevando a cabo una PCR con una combinación distinta de primers iTru5 y iTru7. Las librerías obtenidas fueron colocadas en un pool para realizar la selección de fragmentos de 500 pb \pm 10% con un equipo Pippin Prep (Sage Science, Beverly, MA, U.S.A.). Como paso final se realizó un PCR de ciclos cortos utilizando los primers P5 y P7, para incrementar la concentración de los fragmentos deseados. Los productos de PCR fueron agregados a un nuevo pool, estandarizando todas las librerías a la misma concentración, la secuenciación de los productos se realizó en un equipo HiSeq PE150 de Illumina en el Oklahoma Medical Research Foundation.

Tabla 2. Individuos utilizados para elaborar las librerías genómicas del paso 1 del protocolo RADcap.

Localidad	No. de muestras	Estado	País
BAB	2	Nayarit	México
COL	2	Colima	México
GRO	2	Guerrero	México
MCH	1	Michoacán	México
OAX	2	Oaxaca	México
SRO	1	Baja California Sur	México
CRI	2	Espíritu Santo	Costa Rica
GUA	2	San Jose	Guatemala
ECU	1	Manabí	Ecuador
Total	15		

Los datos generados a partir de los 15 individuos fueron procesados empleando el módulo *process_radtags* de *Stacks* v1.42 (Catchen *et al.*, 2011). Las lecturas crudas fueron “demultiplexadas” (separadas en archivos individuales), y se eliminaron los “adaptadores” utilizados para la elaboración de la librería genómica. Aquellas secuencias que contenían adaptadores incorrectos o bases erróneas fueron eliminadas. Con las secuencias procesadas se realizó un ensamble “*de novo*”, utilizando los siguientes valores de $M = 3$, que representa el valor mínimo de lecturas por individuo para formar un contig, $n=4$, que representa el valor mínimo contig para formar un locus. Finalmente empleando el módulo *population* en *stacks* v1.42 (Catchen *et al.*, 2011) se selecciono la opción en la cuál por lo menos tres individuos compartieran un locus (r), usando una cobertura mínima para cada locus de cada individuo por contig de 3 (m).

Se generaron archivos en formato FASTA que fueron usados para crear un catálogo de loci polimórficos que estuvieran presentes en por lo menos cinco de las nueve localidades utilizadas para diseñar las sondas. Del catálogo de loci se seleccionaron secuencias que fueran lo menos redundantes posible y que no permitieran hibridación entre estas, con el objetivo de no tener errores en la síntesis de las sondas (ssRNA) que serían utilizadas en la reacción de hibridación con la región a capturar. Para realizar este proceso se evaluaron las secuencias usando BLAST 2.2.19 (Boratyn *et al.*, 2013). Se descartaron todos los locus que fueron recuperados en una o ambas secuencias con alguna otra secuencia generada como *primer* para el desarrollo de las sondas, con esto se generó un total de 1973 RAD loci que fueron empleados por la compañía Arbor Biosciences, para generar dos sondas (R1 y R2) para 1000 loci.

El segundo paso del protocolo RADcap consistió en la digestión de ADN de 192 individuos de 18 localidades empleando las tres enzimas de restricción mencionadas anteriormente. El ADN fue normalizado antes de la elaboración de la librería a una concentración de 20 ng/μl considerando los valores obtenidos con Qubit. Los individuos fueron seleccionados al azar para generar 2 pools de 96 muestras cada uno. Una vez digerido el ADN se agregó la enzima T4 ligasa, sin deshabilitar la acción de las enzimas de restricción, para promover la eliminación de los dímeros y quimeras generadas durante el PCR. Con el objetivo de identificar y remover errores por la duplicación de PCR, una vez ligados los adaptadores se agregó un primer degenerado que contenía ocho bases degeneradas (8N), el cual permitió reconocer y eliminar las secuencias repetidas generadas durante el proceso de PCR (Hoffberg *et al.*, 2016).

Finalmente, la captura de secuencias se realizó de la siguiente manera. El volumen total de la muestra fue dividido en tres tubos de 0.2 mL, estos productos fueron amplificados por PCR. Cada uno de estos tubos fueron limpiados con la ayuda de perlas magnéticas y sometidos al proceso de hibridación de acuerdo con el protocolo RNA myBaits(R). La secuenciación se realizó en la plataforma Illumina HiSeq 2000, en el Environmental Health Science Department, University of Georgia (Athens, GA, U.S.A.) (para más detalles ver ANEXO I).

8.4. Procesamiento de datos

Una vez obtenidas las secuencias, los archivos BCL (datos crudos), fueron convertidos a un archivo de formato FASTQ, con el programa BCL2FAST2, modificando los parámetros por default para crear archivos separados FASTQ, y de esta forma obtener lecturas indexadas. De los archivos FASTQ los duplicados fueron removidos y demultiplexados usando *Stacks* v2.0 (Rochette *et al.*, 2019). Empleando el primer iTru 7, en el módulo *process_radtags* de *Stacks* v2.0 (Rochette *et al.*, 2019), fueron generados archivos separados para cada uno de los 192 individuos. Se obtuvieron secuencias pareadas de un tamaño de 150 pb (pares de bases), de las cuales se descartaron aquellas con bases erróneas, de baja calidad, o lecturas que tuvieran una secuencia con dos bases más de la que se esperaba obtener en el sitio de corte de la enzima. Con el módulo *clone_filter* de *Stacks* v2.0 (Rochette *et al.*, 2019) se removieron las lecturas que tuvieran la misma combinación del primer iTru5 con respecto a la librería 3RAD, lo cual probablemente representaba una duplicación de lecturas generada por el PCR.

La limpieza inicial de los datos generó secuencias de un tamaño de 139 pb, así mismo se utilizaron aquellos individuos que tuvieran por lo menos 10,000 lecturas y una cobertura de 4X, que es lo recomendado para este protocolo (Hoffberg *et al.*, 2016). De esta forma se generó una base de datos de 154 organismos, ya que se determinó que 34 muestras presentaban algún error. Las sondas fueron nombradas con números consecutivos sin ningún criterio particular, y se les adicionó un total de 20 Ns entre la sonda 1 y la sonda 2 las cuales fueron concatenadas. Las secuencias de los 154 individuos fueron mapeadas contra las sondas generadas, las cuales fueron consideradas como referencias (pseudo-genoma), usando BWA v 0.7.7 (Li & Durbin, 2009), empleando el algoritmo *mem*. Los archivos BAM obtenidos se utilizaron para hacer un ensamblado empleando un pseudo-genoma (sondas), con el módulo “*ref_map*” en *Stacks* v.2.0 (Carchen *et al.*, 2013; Rochette *et al.*, 2019). Para la obtención de variantes (SNPs calling) se utilizó el módulo de “*populations*” en *Stacks* v. 2.0. Finalmente, se retuvieron aquellos loci que se recuperaban en por lo menos el 50% de los individuos ($r = 0.50$) y que presentaran un valor de máxima heterocigosidad del 70% ($h = 0.70$) con el fin de excluir parálogos (Pedraza-Marrón, *et al.*, 2019). Para detalles de los scripts utilizados para la obtención de SNPs ver ANEXO II.

Estos filtros iniciales generaron una base final de 123 individuos, esta base de datos fue sometida a una segunda depuración utilizando VCFtools v0.1.15 (Danecek *et al.*, 2011). Se eliminaron los individuos que contarán con más del 20% de datos faltantes (una excepción fue realizada para aquellas localidades que contaban con menos de 5 individuos), además se removieron los alelos que contaban con una frecuencia menor al 1%. Finalmente, para eliminar el efecto que tiene el desequilibrio de ligamiento, se retuvo un SNP cada 1000 pb usando el software PLINK v. 1.9 (Purcell *et al.*, 2007). Para corroborar la ausencia de desequilibrio de ligamiento, se calculó el índice de asociación (i_a) en el paquete *Poppr* de R (Kamvar *et al.*, 2014).

8.5. Detección de loci bajo selección (Outlier loci)

Dos aproximaciones diferentes fueron utilizadas para detectar loci que estuvieran bajo selección (outlier loci OL). El primer software empleado fue BayeScan v.2.1 (Foll & Gaggiotti, 2008), este método identifica loci bajo selección usando diferencias en las frecuencias alélicas. Usando una regresión lineal, se descomponen los coeficientes de F_{ST} , en componentes específicos para cada población y locus. El análisis de BayeScan se realizó usando los valores del programa por default, los cuales consistieron en 20 pruebas piloto de 5000 interacciones cada una, un valor de burn-in de 50,000 en cada interacción y muestreando cada 5,000 generaciones, con un intervalo de reducción (thinning) de 10, los individuos fueron agrupados por localidad las cuales fueron consideradas como “poblaciones”.

El segundo método utilizado para evaluar los loci que están bajo selección fue el software PCAdapt v4.0. (Privé *et al.*, 2020). Esta aproximación se basa en un Análisis de Componentes Principales (ACP), los loci que se consideraron bajo selección fueron aquellos que tuvieron una tasa de reconocimiento de errores (False Recovery Rate correction) de 0.1. Se utilizó el valor de alfa (α) por default (0.1) y se retuvieron los dos primeros componentes principales. Todos los loci que se identificaron bajo selección con ambos métodos se consideraron como “outlier loci” y fueron separados en una base de datos independiente nombrada “OL”. Los restantes 1858 loci fueron considerados como neutrales y fueron separados y denominados como “NL”. Finalmente, la base que contenía tanto loci neutrales como aquellos bajo selección

fue nombrada base combinada y nombrada como “CL”, estas tres bases de datos fueron analizadas independientemente.

Por último, los loci bajo selección obtenidos fueron comparados con los genomas disponibles en la base de datos de GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) mediante el algoritmo de blastn, esto con la finalidad de detectar si coincidían con alguna región codificante del genoma. Adicionalmente, la base de OL fue contrastada con el genoma de *Lutjanus erythropterus* (número de BioProjects: PRJNA662638), para evaluar si coincidía con alguna proteína en particular.

8.6. Estimación de riqueza y diversidad genética

Los valores de diversidad genética para las tres bases de datos (CL, NL y OL), fueron calculados con las funciones *basic.stats* y *allelic.richness* del paquete de R *hierfstat* v.0.04.22 (Goudet & Jombart, 2015). Se calculó para cada localidad la heterocigosidad esperada (H_e) observada (H_o), el coeficiente de endogamia (F_{IS}) y la riqueza allelica (Ar). Los intervalos de confianza para F_{IS} se calcularon con la función *boot.ppfis* en *hierfstat* con un valor de bootstraps de 1000. En Arlequin versión 3.5.2.2 (Schneider *et al.*, 2000; Excoffier & Lischer, 2010) se calcularon los valores de F_{ST} pareados siguiendo el método de Weir & Cockerham (1984). Los valores de F_{ST} fueron ajustados mediante la corrección de Benjamini & Yekutieli, (2001) (B-Y), como fue propuesto por Narum, (2006), esta corrección se realiza dividiendo el valor crítico de α por la sumatoria del número de pruebas realizadas. El método B-Y ha probado ser un buen estimador para detectar valores de significancia considerados erróneamente como no significativos, esto al ser una prueba múltiple de valores de F_{ST} que controla la tasa de falsos negativos reduciendo el error tipo II (Narum, 2006).

8.7. Evaluación de la estructura poblacional

Usando el software SAMOVA 2.0 (Dupanloup *et al.*, 2002), se realizó un análisis espacial de varianza molecular (SAMOVA), considerando para K valores del 1 al 17 (utilizamos el valor máximo de K considerando el total de las localidades, como es recomendado por Pritchard *et al.*, (2000)), y usando 10,000 interacciones sin ningún agrupamiento previo. Los grupos que mejor explicaron la estructura genética con

SAMOVA fueron evaluados con un análisis de varianza molecular (AMOVA), en Arlequin version 3.5.2.2 (Schneider *et al.*, 2000; Excoffier & Lischer, 2010), permitiendo un valor de datos faltantes del 10%.

Adicionalmente, se realizó un análisis discriminante de componentes principales (DAPC), usando el paquete de R *adegenet* 2.0.1 (Jombart & Ahmed, 2011) para evaluar la formación de clústeres en relación a la ubicación espacial de los individuos. Para todas las bases de datos el DAPC fue realizado de dos formas. La primera consistió en agrupar a los individuos por localidades y la segunda agrupó a las localidades con el resultado del SAMOVA. Al agrupar a los individuos por localidad la función *find.cluster* fue utilizada para determinar el mejor valor de K, el número de clústeres fue seleccionado mediante la comparación de resultados siguiendo el criterio de información bayesiana (BIC, Bayesian Information Criterion). Para el análisis de DAPC con la función *dapc*, se retuvieron 70 componentes principales, los cuales representaban más del 80% de la variación total de los datos. Los resultados de dispersión del DAPC fueron graficados con el paquete *ggplot2* en R (Wickham, 2016).

La estructura poblacional fue también analizada con el software ADMIXTURE 1.3.0 (Alexander & Lange, 2011), el cuál emplea una aproximación de máxima verosimilitud para calcular el nivel de ancestría de cada individuo que *a priori* se considera que no está emparentado con ningún otro. Este método es ampliamente utilizado para base de datos que contienen una gran cantidad de loci (SNPs). El programa ADMIXTURE fue usado empleando el algoritmo EM como un método de optimización, y usando un valor de bootstrap de 2000. Una validación cruzada fue utilizada para definir el mejor valor de K y de coancestría, para esto se seleccionó el valor más bajo de error de la validación cruzada (CVE, cross-validated error).

8.8. Aislamiento por distancia, ambiental y por resistencia

El aislamiento por distancia (IBD, por sus siglas en inglés), ha sido ampliamente utilizado para explicar las diferencias genéticas que se encuentran entre poblaciones y que se incrementan gradualmente por el efecto de la distancia geográfica (Wright, 1978). Para probar la hipótesis de IBD realizamos una correlación entre los valores pareados de F_{ST} y la distancia geográfica entre las localidades (estas fueron

transformadas a logaritmo natural (LN)), utilizando una prueba de Mantel. Las distancias geográficas fueron calculadas usando el paquete *marmap* v1.0.4 (Pante & Simon-Bouhet, 2013) en R. El paquete *marmap* considera la batimetría del ambiente marino, lo cual nos permite una aproximación más adecuada de la distancia geográfica, ya que los organismos marinos realizan desplazamientos verticales. Para la cuantificación de las distancias se ajustó el algoritmo “least cost path (LCP)” usando la profundidad a la que se distribuye *L. guttatus* 5-120 m (Robertson & Allen, 2015). Una segunda prueba de Mantel fue realizada usando las distancias geográficas euclidianas, ya que las corrientes tienen un efecto en el desplazamiento de las larvas pelágicas en los lutjanidos como fue reportado por Pedraza-Marrón *et al.* (2019).

Para evaluar el aislamiento por el ambiente (IBE, por sus siglas en inglés) utilizamos 13 variables oceanográficas, las cuales fueron descargadas del repositorio Bio-ORACLE (Tabla 3) (Tyberghein *et al.*, 2012; Assis *et al.*, 2017). Para descartar las variables fuertemente correlacionadas se realizó una prueba de colinealidad entre 12 de las 13 variables descargadas. Para evaluar la colinealidad se hizo una correlación de Pearson en el paquete *GGally* (Schloerke *et al.*, 2018) en R, y aquellas variables que presentaran un valor de correlación mayor al 80% fueron descartadas. Cinco variables ambientales (temperatura, salinidad, productividad primaria, fitoplancton y concentración de clorofila), presentaron valores de correlación menor al 80%, con estas variables se elaboró una matriz ambiental para las localidades utilizadas. Las distancias ambientales fueron calculadas usando el método de distancia de Canberra, mediante la función *havegdist* del paquete *vegan* (Oksanen *et al.*, 2019) en R.

Para la evaluación del aislamiento por resistencia (IBR), se utilizó la velocidad de la corriente, esta capa fue ajustada al tamaño del polígono del POT y fue convertida con el paquete *Raster* (Hijmans, 2023) en R, en un archivo de formato raster. La matriz de resistencia se generó con el programa Circuitscape v. 4.0.5 (McRae, 2006). Se empleó el algoritmo de circuitscape por que predice los posibles patrones de flujo genético de un ambiente heterogéneo, considerando potenciales rutas de dispersión de una región en particular, además calcula el promedio de la resistencia acumulada entre las localidades muestreadas (McRae & Beier, 2007). Tanto la matriz ambiental como la de resistencia fueron usadas para hacer una correlación entre estas y las distancias genéticas, usando una prueba de Mantel. Así mismo en *vegan* se realizó una

correlación de Spearman, usando 9999 permutaciones. Las distancias genéticas fueron consideradas como la variable dependiente, mientras que la matriz ambiental y de resistencia fueron consideradas como las variables independientes.

8.9. Migración espacial

Con el programa EEMS (Estimated Effective Migration Surface) (Petkova *et al.*, 2016) evaluamos la estructura poblacional en el espacio geográfico, con lo que fue posible identificar barreras potenciales al flujo genético. El programa EEMS nos permite diferenciar entre regiones con un constante flujo genético de aquellas que pudieran estar sujetas a una barrera al flujo. Para evaluar este patrón son necesarios tres archivos. Para el primero se generó una matriz de distancias genéticas, las cuales fueron calculadas como una matriz de disimilitud a partir de un archivo tipo bed (plink), usando el módulo *bed2diffs* del paquete EEMS (Petkova *et al.*, 2016). Para el segundo archivo, se generó el polígono de la potencial zona de distribución de *L. guttatus*, este fue obtenido usando la herramienta “polyline” en Google Maps API v3 (<http://www.birdtheme.org/useful/v3tool.html>). Por último, el tercer archivo consistió en las coordenadas geográficas de las localidades donde se muestreo *L. guttatus*. Los valores utilizados en el EEMS consistieron en tres corridas independientes considerando 200, 300 y 450 demes (densidad de vértices o polígonos empleados para generar una gradilla de distribución), un valor de burn-in de 1,000,000 y una longitud de cadenas MCMC de 5,000,000 de interacciones. Los resultados finales, es decir la convergencia de las cadenas y la migración efectiva en el espacio geográfico (mapas de tasa de migración efectiva (m) y la tasa de diversidad efectiva (q)), fueron visualizadas usando la función de paquete EEMS, *Reemplots* en R.

8.10. Demografía histórica

La demografía histórica en *L. guttatus* fue inferida mediante un enfoque Bayesiano usando el programa DIYABC v.2.1.0 (Cornuet *et al.*, 2008). Este método permite contrastar diferentes modelos demográficos, así como evaluar cómo se ajustan los modelos a los datos observados a través de simulaciones limitadas por las especificaciones del modelo (p. ej. expansión poblacional). La distribución de la probabilidad posterior de los parámetros fue estimada a partir del conjunto de datos

simulados con las distancias euclidianas más cortas respecto a los datos observados (Cornuet *et al.*, 2008; Cornuet *et al.*, 2014). En el presente trabajo se evaluaron dos escenarios usando solamente los NL, ya que son los datos que nos permiten evaluar procesos históricos. **Escenario 1:** en un tiempo histórico pasado, se consideró una población de tamaño $N1 + NA$ que ha experimentado una expansión poblacional hace t generaciones. **Escenario 2:** describe una población de tamaño $N1$ que ha permanecido constante desde hace t generaciones. El tiempo generacional empleado fue de 1.5 años, el cual fue calculado para *L. guttatus* (Sarabia-Méndez *et al.*, 2010; Hernández-Álvarez *et al.*, 2015). La capacidad de los modelos para producir datos simulados cercanos a los datos observados fue corroborada al probar diferentes combinaciones de distribuciones *a priori* para cada parámetro de interés (NA , $N1$, y t) (Fig. 15). En primer lugar, se realizaron corridas cortas (10, 000 simulaciones) y posteriormente corridas largas (2, 000,000 de simulaciones), para corroborar que los datos permitieran estimar los dos escenarios, usando los parámetros de la Tabla 3

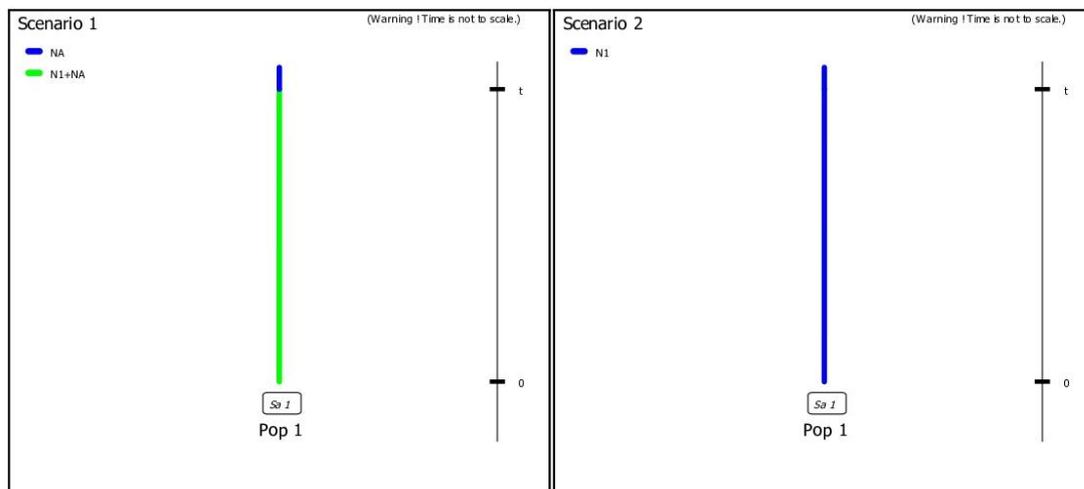


Fig. 15. Representación esquemática de los escenarios evaluados para demografía histórica. A) Escenario de expansión poblacional, B) escenario de una población estable

Para la evaluación de los escenarios se consideraron los resultados previos que indican que la especie había experimentado una expansión poblacional hace 390,000 años (Hernández-Álvarez *et al.*, 2015), la cual coincide con los periodos Glaciares-Interglaciares del pleistoceno. Por tanto, para determinar si durante los periodos interglaciares las condiciones ambientales permitieron una expansión poblacional se evaluaron seis tiempos geológicos, incluyendo el último máximo glacial hace 49, 500

años ($t = 33,000$), y el tiempo de expansión obtenido previamente ($390,000$ años $t = 260,000$).

Por último, los cuatro tiempos usados corresponden con cuatro ciclos interglaciares con una separación de 2 ciclos cada uno (se estima que, a partir del Cuaternario medio, los ciclos se alternan cada $100,000$ años NOAA, 2021), hasta alcanzar los $949,500$ años ($t = 633,000$) (Tabla 3), considerando los periodos Glaciares-Interglaciares ocurridos durante el último millón de años (NOOA, 2021). Para cada corrida se determinó la siguiente condición: $N_A < N_1$ (basado el incremento poblacional obtenido en Hernández-Álvarez, 2015), con la finalidad de especificar al algoritmo de DIYABC que el tamaño ancestral en la población siempre sería menor que el actual ($N_A + N_1$). Finalmente, se calcularon los estadísticos de proporción de homocigotos, promedio de la diversidad genética de todos los loci polimórficos, la varianza de la diversidad genética de todos los loci polimórficos y el promedio de la diversidad genética de todos los loci, esto con el fin de contrastar los datos simulados versus los observados. Para evaluar el ajuste de los modelos a los datos se usó un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés), que es implementado en DIYABC. Finalmente, se cálculo el tamaño efectivo poblacional (N_e) utilizando el programa NeEstimator v.2.1.5 (Do *et al.*, 2014), utilizando el método simple de desequilibrio de ligamiento aleatorio. Siguiendo las recomendaciones de Waples & Do (2010), se usó el criterio de exclusión de alelos raros $P_{crit} = 0.02$ y 0.05 , para obtener el mejor valor entre precisión y desviación, el valor mínimo y máximo del tamaño efectivo poblacional se obtuvo con el criterio del 95% del intervalo de confianza (CIs, por sus siglas en inglés).

Tabla 3. Rangos utilizados para calibrar los modelos de expansión poblacional, para A) Ultimo máximo glacial (49,000 años), B) tiempo previo calculado de expansión poblacional (390,00 años) C) Un ciclo glacial-interglacial anterior al calculado (549,000 años), D) dos ciclos glacial-interglacial anterior al calculado y e) tres ciclos glaciares-interglaciares anteriores al calculado (949,500 años). Población ancestral (NA), población actual (N1), periodo temporal (t). Promedio = \bar{x} , mínimo = Min, máximo = Max, desviación estándar = $d.e.$

A) 49,500 años												
	NA				N1				t			
Distribución	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$
Normal	500,000	100,000	1,000,000	100,000	5,000,000	1,000,000	10,000,000	1,000,000	49,500	33,000	66,660	1,000
B) 390,000 años												
	NA				N1				t			
Distribución	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$
Normal	500,000	100,000	1,000,000	100,000	5,000,000	1,000,000	10,000,000	1,000,000	280,000	260,000	300,000	10,000
C) 549,000 años												
	NA				N1				t			
Distribución	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$
Normal	500,000	100,000	1,000,000	100,000	5,000,000	1,000,000	10,000,000	1,000,000	399,500	366,000	433,000	10,000
D) 750,000 años												
	NA				N1				t			
Distribución	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$
Normal	500,000	100,000	1,000,000	100,000	5,000,000	1,000,000	10,000,000	1,000,000	533,000	500,000	566,000	10,000
E) 949,500 años												
	NA				N1				t			
Distribución	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$	\bar{x}	Min	Max	$d.e.$
Normal	500,000	100,000	1,000,000	100,000	5,000,000	1,000,000	10,000,000	1,000,000	670,000	633,000	700,000	10,000

IX. RESULTADOS

9.1. Selección de SNPs y detección de loci bajo selección (outliers)

Se obtuvieron 24 millones de lecturas a partir del protocolo RADcap. El primer filtro utilizado, que consistió en eliminar las lecturas repetidas, retuvo 10 millones de lecturas. Estas secuencias iniciales fueron procesadas para generar el archivo con variantes (SNPs) para cada individuo. Esto resultó en una base de datos para 154 individuos, con 10,814 SNPs, con un porcentaje del 39.4% de datos faltantes, la cual fue visualizada en un mapa de calor (heatmap, Fig. 16A). De esta forma, evaluamos de manera cualitativa cuales de los individuos podrían presentar una cantidad de datos faltantes muy marcada. Este mapa de calor, mostró que los individuos de Guatemala presentaban muy pocos loci; fue así que cuantificamos los datos faltantes de esta localidad, los cuales representaba un porcentaje mayor al 80%, por lo que esté fue el porcentaje que utilizamos como base para eliminar a los individuos que no cumplieran con este requisito.

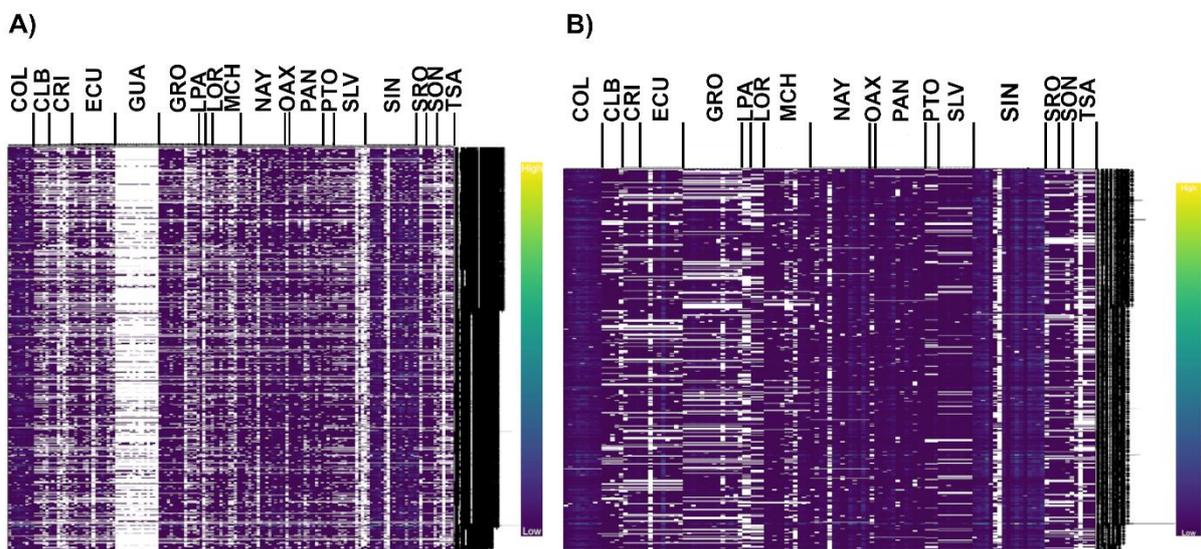


Fig. 16. Mapas de calor para A) 154 individuos con 10,814 SNPs y B) 123 individuos con 2003 SNPs. El color blanco indica ausencia de loci, el rango de colores indica en amarillo loci con coberturas mayores de 100X y en morado se representan loci con coberturas de 4X.

Una vez definido el umbral máximo de datos faltantes que serían utilizados, dos bases fueron empleadas para contrastar si los resultados cambiaban al utilizar individuos

que contarán con una mayor cantidad de datos faltantes de aquellas localidades que contaran con un número reducido de tamaño de muestra (p.ej. LOR). En la primera base se retuvieron solo individuos con el umbral de porcentaje antes señalado (80%), esto resulto en 115 individuos con 2464 SNPs. En la segunda base de datos se retuvieron individuos que presentaran un porcentaje mayor al 20% de datos faltantes, de aquellas localidades que contaban con pocos individuos, esto resulto en 123 individuos con 2003 SNPs (Tabla 4). Estas bases fueron visualizadas con un mapa de calor y contrastadas para corroborar que mantuvieron la mayor cantidad de loci (Fig. 16B y ANEXO III). Los resultados de ambas bases en cuanto a la estructura son muy similares, lo cual es reportado en el ANEXO III. Debido a esto se tomó la decisión de emplear la base de datos que contenía mayor cantidad de individuos.

Tabla 4. Localidades y número de organismos empleados para el análisis de genómica poblacional de *Lutjanus guttatus*.

Localidad	Código	No de muestras	País	Grupos
Santa Rosalía	SRO	3	México	Norte
Sonora	SON	5	México	Norte
Loreto	LOR	3	México	Norte
La Paz	LPA	2	México	Norte
Todos Santos	TSA	5	México	Norte
Sinaloa	SIN	15	México	Norte
Nayarit	NAY	12	México	Norte
Colima	COL	9	México	Norte
Michoacán	MCH	8	México	Norte
Partidito	PTO	3	México	Norte
Guerrero	GRO	10	México	Norte
Oaxaca	OAX	1	México	Norte
El Salvador	SLV	8	El Salvador	Norte
Costa Rica	CRI	9	Costa Rica	Norte
Panamá	PAN	12	Panamá	Sur
Colombia	COL	5	Colombia	Sur
Ecuador	ECU	13	Ecuador	Sur
Total		123		

Por tanto, la base de datos final consistió de 123 individuos de 17 localidades (Tabla 4), los cuales presentaron una cobertura mínima de 4X (Fig. 17). En total se retuvieron 2003 SNPs bi-alelicos en 942 loci (estos loci fueron reconstruidos en *Stacks* sin ningún significado biológico, ya que no se cuenta con un genoma de referencia). La base de loci combinados (CL, SNPs neutrales + loci putativamente bajo selección) consistió por tanto de 2003, SNPs. Las dos aproximaciones para determinar SNPs bajo selección (outliers) generaron una base consenso de 145 SNPs, los cuales fueron

separados y conforman la base de los loci bajo selección u outliers (OL). Por otro lado, los 1858 SNPs restantes corresponden a la base de datos de los loci neutrales (NL). El análisis de desequilibrio de ligamiento y el índice de asociación, no mostró un valor significativo para ninguna de las tres bases empleadas (CL, NL y OL) (Fig. 18).

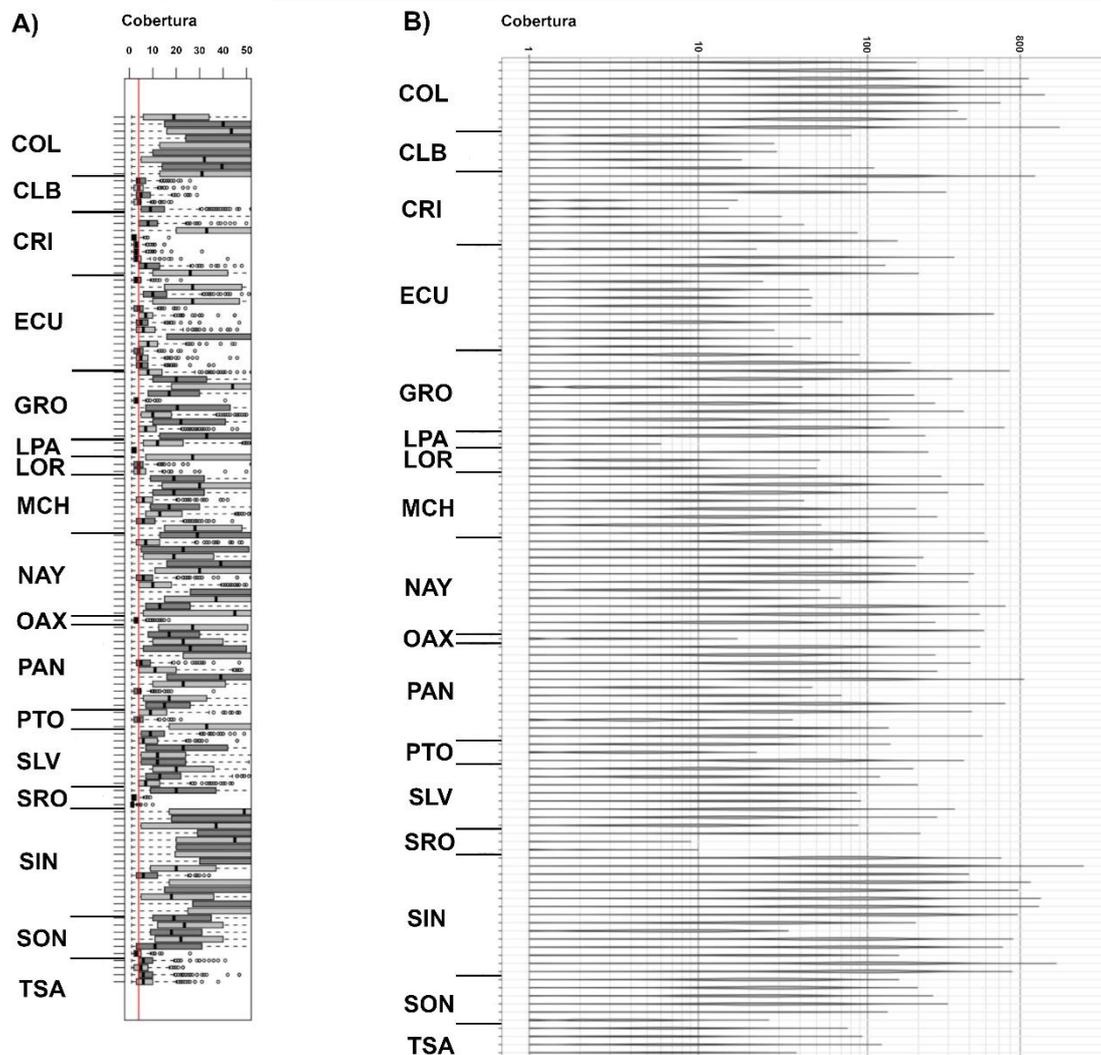
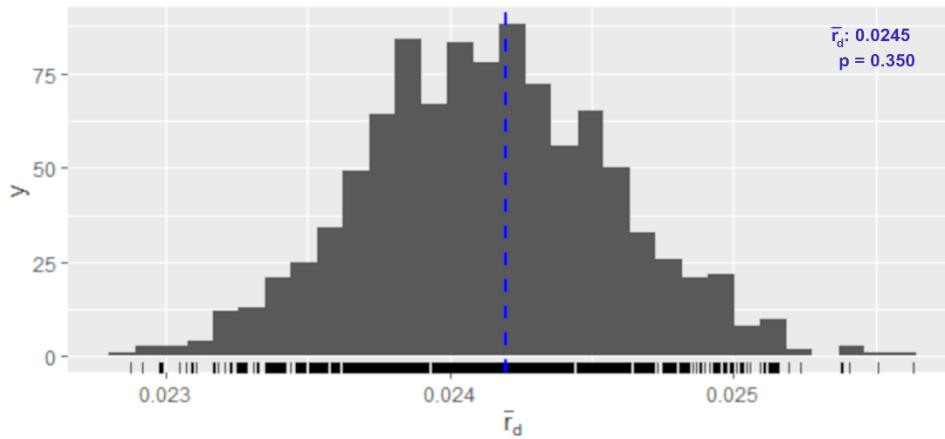
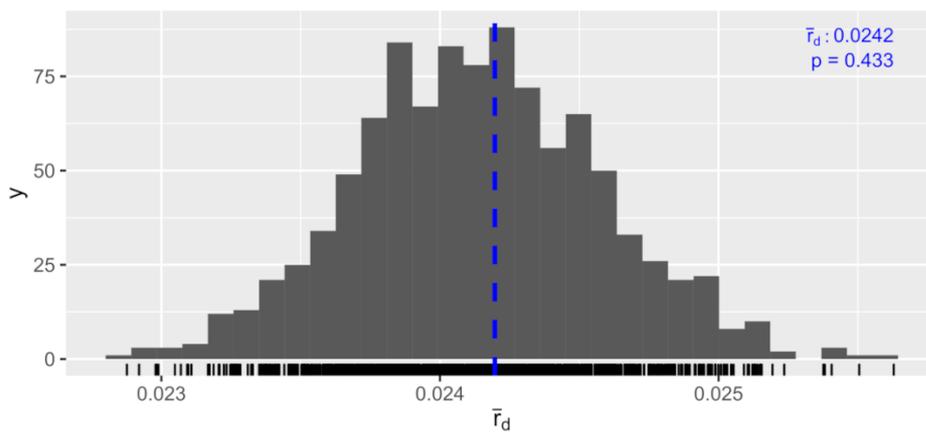


Fig. 17. Cobertura de secuenciación, en A) Se muestra el valor mínimo de cobertura (4X), el cual es señalado por la línea roja, B) Cobertura mínima y máxima de los 123 individuos.

A) Índice de asociación para CL



B) Índice de asociación para NL



C) Índice de asociación para OL

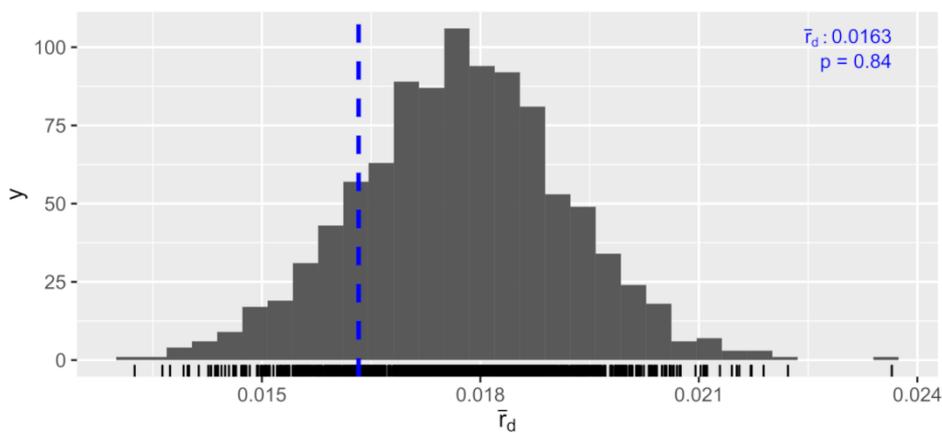


Fig. 18. Resultados del análisis de desequilibrio de ligamiento evaluando A) 2003 SNPs (CL), B) 1858 SNPs (NL) y C) 145 SNPs (OL).

9.2. Diversidad genética

Los resultados para los loci combinados (CL), recuperaron valores positivos de F_{IS} , y los intervalos de confianza resultaron superiores de cero y significativos (Fig. 19C), lo cual sugiere que las poblaciones de *L. guttatus* presentan cierto grado de deficiencia de heterocigotos. Para el análisis de endogamia, se eliminaron las localidades de LPA, SRO y OAX ya que contaban con pocos individuos y resultaron en valores superiores a 1 (3, 3 y 1, individuos respectivamente, datos de H_0 no mostrados) y esto podría sesgar los resultados (Fig. 19C). En cuanto a la diversidad genética los valores de H_0 estuvieron en un rango de 0.048 para SRO a 0.085 para MCH. Por otro lado, los valores de H_e calculados estuvieron en un rango de 0.058 para LPA a 0.126 para COL. Por otro lado, la riqueza alélica (A_r) estuvo en un rango de 1.057 en SRO a 1.122 en COL. Tanto la H_0 , H_e y A_r , presentaron valores muy similares entre las localidades evaluadas (Fig. 19).

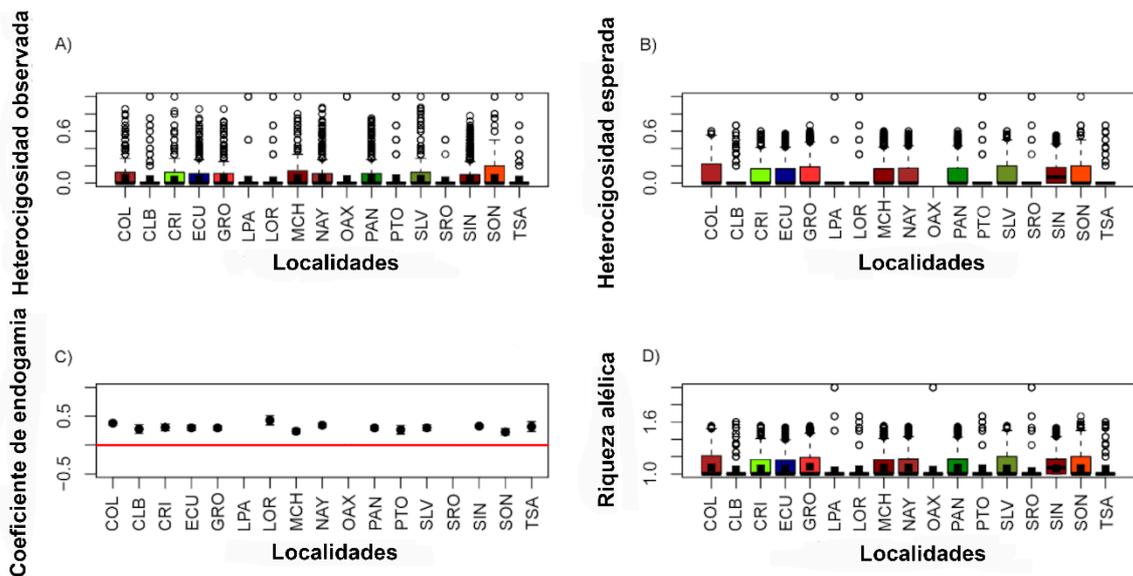


Fig. 19. Índices de diversidad genética calculados empleando los CL (2003 SNPs) y corresponde: A) H_0 , B) H_e , C) F_{IS} y D) A_r .

Los valores de F_{IS} para la base de los loci neutrales (NL) resultaron en su mayoría positivos, con excepción de la localidad de TSA, la cual presentó un valor negativo ($F_{IS} = -0.483$) (Tabla 5). En el caso de la base de los loci sujetos a selección (OL), los valores de F_{IS} resultaron todos positivos (rango de 0.130 para TSA hasta 0.572 para CLB). En ambas bases de datos los intervalos de confianza resultaron mayores a cero (Fig. 20), lo cual refuerza la hipótesis de deficiencia de heterocigotos. Tanto para NL

como para OL, los valores de heterocigosidad observada (H_o) resultaron similares. En el caso de la base de NL los valores estuvieron en un rango de 0.047 para SRO hasta 0.086 para MCH; mientras que para la base de OL los valores estuvieron en el rango de 0.053 para TSA hasta 0.078 para CRI. La H_e mostró los valores más bajos en la base de los NL (rango de 0.047 para LPA hasta 0.127 para COL), y los mayores valores se recuperaron para los OL (rango de 0.033 SRO hasta 0.175 para LPA) (Tabla 5). El análisis de la riqueza alélica (Ar) recuperó valores similares para ambas bases, presentando los valores para NL estuvieron entre 1.05 para SRO hasta 1.12 para COL, y para los OL los valores se encontraron entre 1.06 para SRO hasta 1.11 para CLB (Tabla 5).

Tabla 5. Índices de diversidad genética calculados por localidad para *L. guttatus*. N (Número de muestras), Ar (Riqueza alélica), H_o (Heterocigosidad observada), H_e (Heterocigosidad esperada) y F_{IS} (Coeficiente de endogamia).

Localidad	Código	N	Ar	H_o	H_e	F_{IS}	Ar	H_o	H_e	F_{IS}
			NL				OL			
Santa Rosalía	SRO	3	1.05	0.047	0.061	----	1.06	0.061	0.033	----
Sonora	SON	5	1.10	0.086	0.110	0.219*	1.09	0.069	0.105	0.335*
Loreto	LOR	3	1.09	0.059	0.104	0.432*	1.09	0.067	0.106	0.347*
La Paz	LPA	2	1.07	0.072	0.047	----	1.11	0.095	0.175	----
Todos Santos	TSA	5	1.07	0.056	0.084	-0.483	1.06	0.053	0.063	0.130*
Sinaloa	SIN	15	1.11	0.081	0.071	0.326*	1.09	0.062	0.101	0.381*
Nayarit	NAY	12	1.11	0.078	0.119	0.344*	1.09	0.058	0.093	0.371*
Colima	COL	9	1.12	0.079	0.127	0.376*	1.10	0.066	0.113	0.405*
Michoacán	MCH	8	1.11	0.086	0.113	0.237*	1.09	0.070	0.090	0.291*
Partidito	PTO	3	1.09	0.075	0.102	0.265*	1.09	0.075	0.103	0.254*
Guerrero	GRO	10	1.10	0.078	0.110	0.290*	1.10	0.067	0.110	0.386*
Oaxaca	OAX	1	----	----	----	----	----	----	----	----
Salvador	SLV	8	1.11	0.081	0.113	0.288*	1.10	0.059	0.105	0.192*
Costa Rica	CRI	9	1.09	0.069	0.100	0.311*	1.10	0.078	0.105	0.253*
Panamá	PAN	12	1.10	0.078	0.110	0.291*	1.09	0.062	0.102	0.286*
Colombia	CLB	5	1.08	0.065	0.086	0.241*	1.11	0.054	0.133	0.572*
Ecuador	ECU	13	1.10	0.076	0.107	0.290*	1.00	0.055	0.095	0.414*
Total		123	1.09	0.073	0.097	0.220	1.08	0.061	0.102	0.288

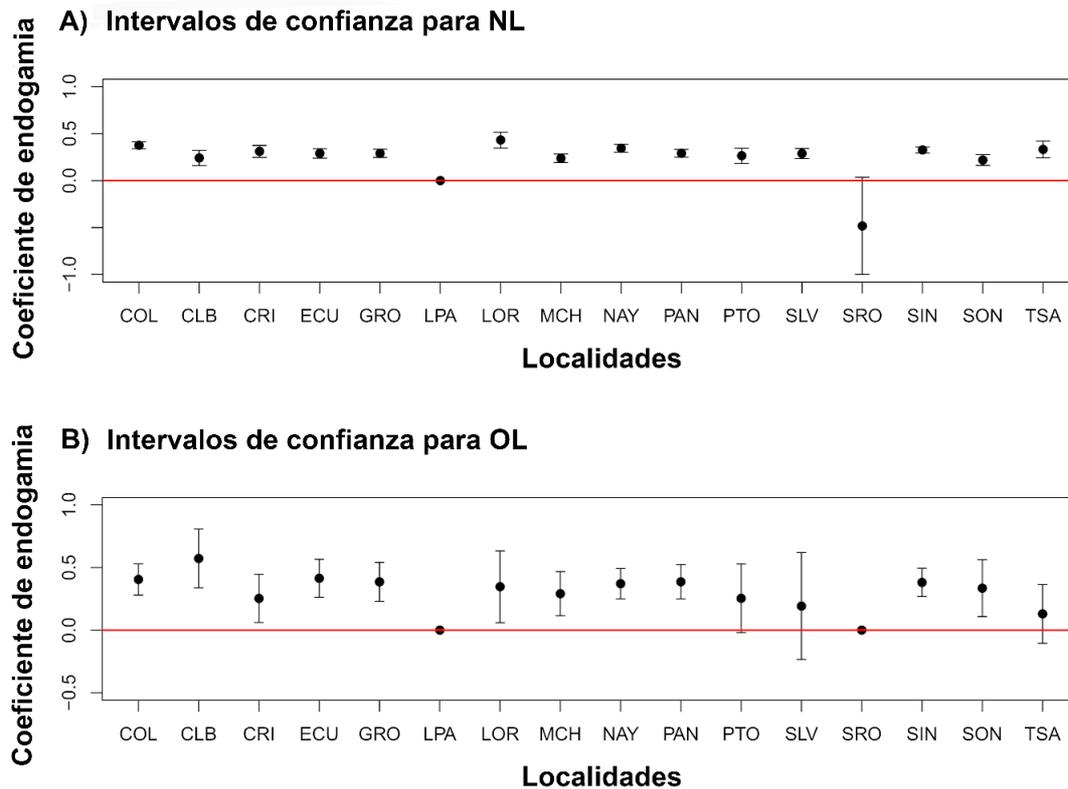


Fig. 20. Valores de confianza calculados para A) NL = 1858 SNPs y B) OL = 145 SNPs

9.3. Estructura poblacional

Posterior al ajuste del valor de significancia para pruebas simultaneas ($p = 0.015$), para todos los loci (CL) se recuperaron valores de F_{ST} pareados con diferenciación genética significativa en tres localidades, PAN (rango $F_{ST} = 0.042$ hasta 0.065 ; $p < 0.015$), CLB (rango de $F_{ST} = 0.046$ hasta 0.098 ; $p < 0.015$) y ECU (rango de $F_{ST} = 0.054$ hasta 0.091 ; $p < 0.015$) (Tabla 6), las cuales representan las localidades al sur de la distribución de la especie (Fig. 14). Contrario a lo esperado, las localidades del Golfo de California (LOR, LPA y SRO) así como TSA no presentaron valores significativos de diferenciación (Tabla 6). Al analizar las bases por separado, para la base de NL, no se encontraron valores de diferenciación genética significativa (Tabla 7), con excepción de la comparación entre las localidades de SLV versus PAN, la cual presentó un valor marginalmente significativo ($F_{ST} = 0.031$; $p = 0.015$). En contraste, la base de OL presentó altos valores de diferenciación genética significativa de las tres localidades al sur de la distribución de la especie (PAN, CLB y ECU), con valores altos de F_{ST} (rango de 0.427 hasta 0.670 ; $p < 0.015$) (Tabla 8).

Tabla 6. Valores de F_{ST} pareados para la base CL para *L. guttatus*. Valor de significancia $p = 0.015$

	Grupo norte														Grupo Sur		
	SRO	SON	LOR	LPA	TSA	SIN	NAY	COL	MCH	GRO	PTO	OAX	SLV	CRI	PAN	CLB	ECU
SRO	0	0.999	0.999	0.601	0.965	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.967	0.999
SON	-0.637	0	0.565	0.814	0.871	0.334	0.313	0.472	0.683	0.071	0.037	0.999	0.047	0.109	0.000	0.008	0.000
LOR	-0.820	-0.009	0	0.695	0.519	0.855	0.977	0.940	0.986	0.871	0.594	0.999	0.622	0.129	0.106	0.089	0.044
LPA	0.011	-0.050	-0.003	0	0.436	0.969	0.952	0.916	0.913	0.949	0.303	0.999	0.867	0.612	0.885	0.713	0.877
TSA	-0.438	-0.049	0.008	0.046	0	0.995	0.982	0.988	0.970	0.972	0.413	0.999	0.806	0.717	0.535	0.081	0.325
SIN	-0.619	0.011	-0.012	-0.133	-0.074	0	0.293	0.880	0.980	0.178	0.627	0.999	0.140	0.965	0.000	0.030	0.000
NAY	-0.568	0.008	-0.033	-0.080	-0.058	0.008	0	0.726	0.625	0.393	0.152	0.999	0.084	0.997	0.000	0.018	0.000
COL	-0.671	0.001	-0.021	-0.079	-0.067	-0.003	-0.001	0	0.669	0.311	0.552	0.999	0.160	0.913	0.000	0.007	0.000
MCH	-0.621	-0.006	-0.036	-0.145	-0.058	-0.010	0.001	0.000	0	0.293	0.618	0.999	0.067	0.832	0.000	0.040	0.000
GRO	-0.515	0.016	-0.021	-0.117	-0.061	0.010	0.000	0.005	0.007	0	0.229	0.999	0.136	0.993	0.000	0.025	0.000
PTO	-0.665	0.039	0.019	0.023	0.011	0.005	0.030	0.006	0.001	0.020	0	0.999	0.171	0.044	0.004	0.018	0.029
OAX	-0.737	-0.170	-0.145	0.155	-0.053	-0.158	-0.173	-0.172	-0.212	-0.112	0.009	0	0.999	0.501	0.539	0.505	0.713
SLV	-0.540	0.029	0.000	-0.089	-0.018	0.017	0.018	0.014	0.025	0.013	0.038	-0.114	0	0.631	0.000	0.016	0.000
CRI	-0.443	0.025	0.048	0.000	-0.016	-0.018	-0.044	-0.018	-0.011	-0.046	0.065	0.017	-0.001	0	0.040	0.004	0.079
PAN	-0.516	0.062	0.030	-0.089	0.000	0.053	0.048	0.055	0.042	0.050	0.056	-0.022	0.065	0.019	0	0.431	0.438
CLB	-0.272	0.098	0.063	0.001	0.069	0.040	0.038	0.046	0.041	0.034	0.120	0.032	0.052	0.066	0.001	0	0.342
ECU	-0.558	0.091	0.061	-0.079	0.013	0.057	0.057	0.055	0.054	0.058	0.070	-0.037	0.055	0.021	0.002	0.009	0

Nota: Debajo de la diagonal se encuentran los valores de F_{ST} , encima de diagonal se encuentra los valores de p . Los valores de F_{ST} significativos son resaltados en negritas. SRO: Santa Rosalía, SON: Sonora, LOR: Loreto, LPA: La Paz, TSA: Todos Santos, SIN: Sinaloa, NAY: Nayarit, COL: Colima, MCH: Michoacán, GRO: Guerrero, PTO: Partidito, OAX: Oaxaca, SLV: Salvador, CRI: Costa Rica, PAN: Panamá, CLB: Colombia y ECU: Ecuador

Tabla 7. Valores de F_{ST} pareados para la base NL (1858 SNPs) para *L. guttatus*. Valor de significancia $p = 0.015$

	Grupo norte														Grupo Sur		
	SRO	SON	LOR	LPA	TSA	SIN	NAY	COL	MCH	GRO	PTO	OAX	SLV	CRI	PAN	CLB	ECU
SRO	0	0.999	0.999	0.598	0.962	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.978
SON	-0.660	0	0.561	0.805	0.832	0.517	0.429	0.650	0.727	0.134	0.038	0.999	0.061	0.089	0.879	0.667	0.891
LOR	-0.831	-0.004	0	0.902	0.496	0.861	0.976	0.887	0.986	0.887	0.497	0.999	0.615	0.089	0.879	0.667	0.891
LPA	0.067	-0.076	-0.044	0	0.524	0.968	0.964	0.924	0.953	0.955	0.407	0.999	0.867	0.605	0.935	0.920	0.803
TSA	-0.464	-0.045	0.009	0.033	0	0.992	0.983	0.986	0.967	0.968	0.402	0.999	0.764	0.659	0.899	0.904	0.446
SIN	-0.658	0.005	-0.012	-0.174	-0.075	0	0.267	0.932	0.979	0.135	0.608	0.999	0.141	0.978	0.361	0.767	0.996
NAY	-0.595	0.004	-0.032	-0.120	-0.056	0.008	0	0.733	0.631	0.359	0.152	0.999	0.079	0.999	0.592	0.754	0.997
COL	-0.656	-0.002	-0.014	-0.113	-0.067	-0.005	-0.001	0	0.646	0.447	0.412	0.999	0.182	0.919	0.235	0.879	0.993
MCH	-0.620	-0.009	-0.034	-0.177	-0.057	-0.011	0.001	0.000	0	0.337	0.590	0.999	0.041	0.852	0.588	0.530	0.987
GRO	-0.546	0.012	-0.023	-0.155	-0.059	0.011	0.005	0.002	0.006	0	0.231	0.999	0.165	0.996	0.391	0.634	0.994
PTO	-0.665	0.042	0.025	0.011	0.020	0.005	0.032	0.012	0.003	0.021	0	0.999	0.129	0.033	0.096	0.181	0.091
OAX	-0.978	-0.136	-0.143	0.148	-0.055	-0.176	-0.188	-0.161	-0.220	-0.118	0.003	0	0.999	0.497	0.922	0.785	0.831
SLV	-0.536	0.027	0.000	-0.118	-0.013	0.016	0.018	0.014	0.028	0.012	0.043	-0.117	0	0.644	0.004	0.341	0.866
CRI	-0.477	0.033	0.050	-0.007	-0.010	-0.022	-0.052	-0.019	-0.013	-0.050	0.073	0.026	-0.003	0	0.943	0.986	0.543
PAN	-0.521	0.005	-0.026	-0.121	-0.033	0.004	0.000	0.006	0.000	0.002	0.030	-0.086	0.031	-0.021	0	0.449	0.862
CLB	-0.595	0.028	-0.006	-0.117	-0.033	-0.002	-0.002	-0.008	0.002	-0.001	0.029	-0.128	0.007	-0.035	0.001	0	0.715
ECU	-0.395	0.026	-0.052	-0.050	0.005	-0.035	-0.040	-0.034	-0.029	-0.038	0.063	-0.061	-0.017	-0.002	-0.015	-0.007	0

Nota: Debajo de la diagonal se encuentran los valores de F_{ST} , encima de diagonal se encuentra los valores de p . Los valores de F_{ST} significativos son resaltados en negritas. SRO: Santa Rosalía, SON: Sonora, LOR: Loreto, LPA: La Paz, TSA: Todos Santos, SIN: Sinaloa, NAY: Nayarit, COL: Colima, MCH: Michoacán, GRO: Guerrero, PTO: Partidito, OAX: Oaxaca, SLV: Salvador, CRI: Costa Rica, PAN: Panamá, CLB: Colombia y ECU: Ecuador

Tabla 8. Valores de F_{ST} pareados para la base OL (145 SNPs) para *L. guttatus*. Valor de significancia $p = 0.015$

	Grupo norte														Grupo sur		
	SRO	SON	LOR	LPA	TSA	SIN	NAY	COL	MCH	GRO	PTO	OAX	SLV	CRI	PAN	CLB	ECU
SRO	0	0.981	0.9	0.706	0.42	0.783	0.801	0.999	0.975	0.414	0.999	0.999	0.98	0.924	0.988	0.037	0.213
SON	-0.453	0	0.802	0.084	0.839	0.032	0.083	0.104	0.167	0.048	0.477	0.999	0.139	0.86	0	0.006	0
LOR	-0.65	-0.066	0	0.201	0.658	0.361	0.79	0.99	0.999	0.254	0.999	0.999	0.653	0.518	0.001	0.017	0.001
LPA	-0.35	0.105	0.234	0	0.286	0.039	0.023	0.052	0.108	0.04	0.295	0.999	0.136	0.432	0.086	0.193	0.026
TSA	0.01	-0.083	-0.022	0.163	0	0.893	0.88	0.833	0.865	0.902	0.875	0.999	0.939	0.873	0.001	0.024	0
SIN	-0.03	0.106	0.006	0.333	-0.059	0	0.709	0.044	0.335	0.912	0.467	0.999	0.397	0.206	0	0	0
NAY	-0.093	0.059	-0.043	0.372	-0.098	-0.008	0	0.402	0.579	0.76	0.418	0.999	0.5	0.021	0	0	0
COL	-0.903	0.042	-0.116	0.19	-0.052	0.041	0	0	0.608	0.021	0.984	0.999	0.274	0.778	0	0	0
MCH	-0.636	0.03	-0.066	0.225	-0.077	0.009	-0.007	-0.012	0	0.112	0.935	0.999	0.999	0.332	0	0.001	0
GRO	0.016	0.069	0.018	0.318	-0.093	-0.029	-0.025	0.046	0.025	0	0.434	0.999	0.185	0.463	0	0	0
PTO	-0.65	-0.004	-0.09	0.111	-0.21	-0.012	-0.017	-0.093	-0.066	-0.009	0	0.999	0.964	0.764	0.011	0.02	0.003
OAX	0.4	-0.575	-0.164	0.183	-0.01	0.155	0.112	-0.324	-0.061	0.042	0.082	0	0.664	0.589	0.078	0.162	0.068
SLV	-0.612	0.04	-0.015	0.21	-0.119	0.009	-0.001	0.013	-0.052	0.018	-0.089	-0.042	0	0.328	0	0.001	0
CRI	-0.198	-0.05	0.023	0.047	-0.085	0.035	0.075	-0.011	0.025	0.01	-0.019	-0.066	0.027	0	0	0.001	0
PAN	-0.449	0.435	0.448	0.183	0.32	0.498	0.491	0.423	0.434	0.487	0.306	0.427	0.39	0.317	0	0.002	0.325
CLB	0.577	0.506	0.688	0.358	0.621	0.646	0.661	0.552	0.626	0.645	0.588	0.645	0.601	0.455	0.198	0	0.001
ECU	0.056	0.568	0.644	0.372	0.557	0.62	0.634	0.561	0.593	0.637	0.542	0.670	0.557	0.475	0.005	0.306	0

Nota: Debajo de la diagonal se encuentran los valores de F_{ST} , encima de diagonal se encuentra los valores de p . Los valores de F_{ST} significativos son resaltados en negritas. SRO: Santa Rosalía, SON: Sonora, LOR: Loreto, LPA: La Paz, TSA: Todos Santos, SIN: Sinaloa, NAY: Nayarit, COL: Colima, MCH: Michoacán, GRO: Guerrero, PTO: Partidito, OAX: Oaxaca, SLV: Salvador, CRI: Costa Rica, PAN: Panamá, CLB: Colombia y ECU: Ecuador

El análisis de SAMOVA utilizando la base CL, recuperó dos grupos ($K = 2$) como la mejor explicación para la estructuración genética de *L. guttatus* ($F_{CT} = 0.0653$; $p < 0.001$) (Tabla 9A). Estos grupos están compuestos de la siguiente manera: Clúster 1 = SRO, SON, LOR, LPA, TSA, SIN, NAY, COL, MCH, GRO, PTO, OAX, SLV y CRI, estas localidades se pueden considerar como la región norte de la distribución de la especie. Por otro lado, el clúster 2 estuvo compuesto por tres localidades PAN, CLB y ECU, las cuales están en la parte sur de la distribución de la especie.

Los resultados de la evaluación del SAMOVA empleando por separado los loci neutrales y bajo selección, mostraron patrones contrastantes. En el caso de la base NL no se recuperó ningún patrón de estructuración genética significativo (Tabla 9B). Por el contrario, los resultados empleando la base de OL, identifican que el valor de $K = 2$ es el que mejor explica la diferenciación genética en *L. guttatus*, ($F_{CT} = 0.4860$; $p = 0.001$) (Tabla 9C). Los dos grupos que se recuperan con OL están compuestos por las mismas localidades (norte y sur) que se recuperaron en el análisis con la base CL, por lo que a partir de este punto decidimos evaluar la presencia de diferenciación genética en la especie considerando los dos grupos recuperados con las bases de CL y OL, por lo que las localidades fueron agrupadas y etiquetadas como Grupo Norte y Grupo Sur.

La evaluación de los dos grupos generados por el SAMOVA como la mejor explicación a la diferenciación genética de la especie se realizó mediante un análisis jerárquico de AMOVA. Empleando la base CL se recuperó un valor de diferenciación genética significativo para los dos clústeres, Grupos Norte y Sur ($F_{CT} = 0.053$; $p = 0.001$) (Tabla 10A). Contrariamente, los resultados obtenidos usando la base NL, no mostraron ningún patrón de diferenciación genética entre las localidades al norte y al sur de la distribución de *L. guttatus* ($F_{CT} = 0.0051$; $p = NS$) (Tabla 10B). Por otro lado, los resultados del AMOVA obtenidos con los OL, muestran una clara diferenciación genética en los dos clústeres identificados por el SAMOVA, siendo estos el Grupo Norte y Grupo Sur ($F_{CT} = 0.4860$; $p < 0.001$) (Tabla 10C).

Tabla 9. Resultados de SAMOVA para $K = 2$, que corresponde con la mejor explicación para la estructura genética: A) Loci combinados (2003 SNPs), B) Loci neutrales (1858 SNPs) y C) Loci bajo selección (145 SNPs).

A) CL				
Dos grupos	Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	valor de p
	Entre grupos	6.54	$F_{CT} = 0.0653$	< 0.001
[SRO-SON-LOR-LPA-TSA-SIN-NAY-COL-MCH-GRO-PTO-OAX-SLV-CRI] + [PAN-CLB-ECU]	Entre poblaciones dentro de grupos	-2.3	$F_{SC} = -0.0246$	NS
	Entre los individuos dentro de la población	4.61	$F_{IS} = 0.0480$	< 0.001
	Entre individuos	91.16	$F_{ST} = 0.0884$	< 0.001
B) NL				
Dos grupos	Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	valor de p
	Entre grupos	3.43	$F_{CT} = 0.0342$	NS
[SRO-SON-LOR-LPA-TSA-SIN-NAY-COL-MCH-GRO-PTO-OAX-SLV-CRI-PAN-ECU] + [CLB]	Entre poblaciones dentro de grupos	-2.95	$F_{SC} = -0.0305$	NS
	Entre los individuos dentro de la población	5.15	$F_{IS} = 0.0517$	0.001
	Entre individuos	94.37	$F_{ST} = 0.0562$	0.03
C) OL				
Dos grupos	Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	valor de p
	Entre grupos	48.29	$F_{CT} = 0.4860$	0.001
[SRO-SON-LOR-LPA-TSA-SIN-NAY-COL-MCH-GRO-PTO-OAX-SLV-CRI] + [PAN-CLB-ECU]	Entre poblaciones dentro de grupos	0.68	$F_{SC} = 0.0270$	NS
	Entre los individuos dentro de la población	-0.28	$F_{IS} = -0.0054$	NS
	Entre individuos	51.31	$F_{ST} = 0.4972$	< 0.001

Nota: NS = No significativo

Tabla 10. Resultados de AMOVA evaluando los grupos norte y sur en *Lutjanus guttatus*, para: A) Loci combinados (2003 SNPs), B) loci neutrales (1858 SNPs) y C) loci bajo selección.

A) CL				
Dos grupos	Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	valor de <i>p</i>
Norte + Sur	Entre grupos	5.53	$F_{CT} = 0.0553$	0.001
	Entre poblaciones dentro de grupos	-2.3	$F_{SC} = -0.0243$	NS
	Entre poblaciones	96.77	$F_{ST} = 0.0323$	NS
B) NL				
Dos grupos	Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	valor de <i>p</i>
Norte + Sur	Entre grupos	0.52	$F_{CT} = 0.0051$	NS
	Entre poblaciones dentro de grupos	-2.73	$F_{SC} = 0.0274$	NS
	Entre poblaciones	102.21	$F_{ST} = -0.0221$	NS
C) OL				
Dos grupos	Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	valor de <i>p</i>
Norte + Sur	Entre grupos	48.61	$F_{CT} = 0.4860$	< 0.001
	Entre poblaciones dentro de grupos	1.37	$F_{SC} = 0.0266$	NS
	Entre poblaciones	50.02	$F_{ST} = 0.4997$	< 0.001

Nota: NS = No significativo

El análisis de DAPC utilizando la base de los CL y empleando a las localidades sin un agrupamiento *a priori*, recupera a los Grupos Norte y Sur como los principales clústeres en las poblaciones de *L. guttatus* (Fig. 21A), lo cuales coinciden con los resultados previos. Adicionalmente, el análisis de DAPC realizando un agrupamiento *a priori* (es decir las localidades agrupadas en Grupo Norte y Sur), corrobora la presencia de dos grupos, ya que se identifica una clara separación de estos dos clústeres genéticos (Fig. 21B).

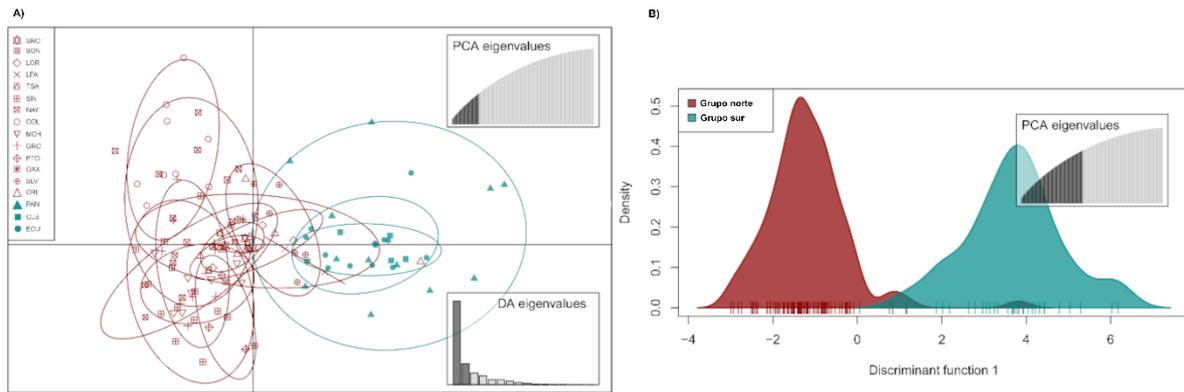


Fig. 21. Resultados DAPC utilizando los loci combinados (2003 SNPs), para A) Sin agrupamiento previo de las localidades y B) agrupando por grupo norte y sur

Los resultados DAPC sin hacer un agrupamiento previo basados en los NL y los OL recuperan los dos grupos, Norte y Sur (Fig. 22A y Fig. 22C). Así mismo, el análisis de DAPC agrupando las localidades dentro de los grupos identificados previamente, detecta una clara separación en dos (Fig. 22B y Fig. 22D).

Los resultados para la base CL de estructuración genética obtenidos mediante ADMIXTURE, sugieren que el valor de $K = 2$ es el que mejor explica la diferenciación genética en *L. guttatus*, esto basados en el menor valor de CVE (Fig. 23A). Los clústeres que se recuperan como los más diferenciados son el Norte y Sur, así mismo se observa que en las localidades de Centroamérica (SLV y CRI) hay una mezcla entre los dos grupos (Fig. 24A). En el caso de la evaluación por separado de los loci, para la base de datos con los NL el valor de $K = 2$ es el que mejor explicación da a la estructuración genética, de acuerdo al valor mínimo de CVE (Fig. 23B), sin embargo, la gráfica de ADMIXTURE con este resultado, no muestra ninguna diferenciación en clústeres genéticos en *L. guttatus* (Fig. 24B). En el caso de la base de OL, la mejor explicación a la estructuración genética está dada por $K = 3$, considerando el menor valor de CVE (Fig. 23C), pero al obtener la gráfica de ancestría de $K = 3$ generada por ADMIXTURE, se observa que la diferenciación en realidad es de dos clústeres principales, los cuales corresponden a los Grupos Norte y Sur (Fig. 24C).

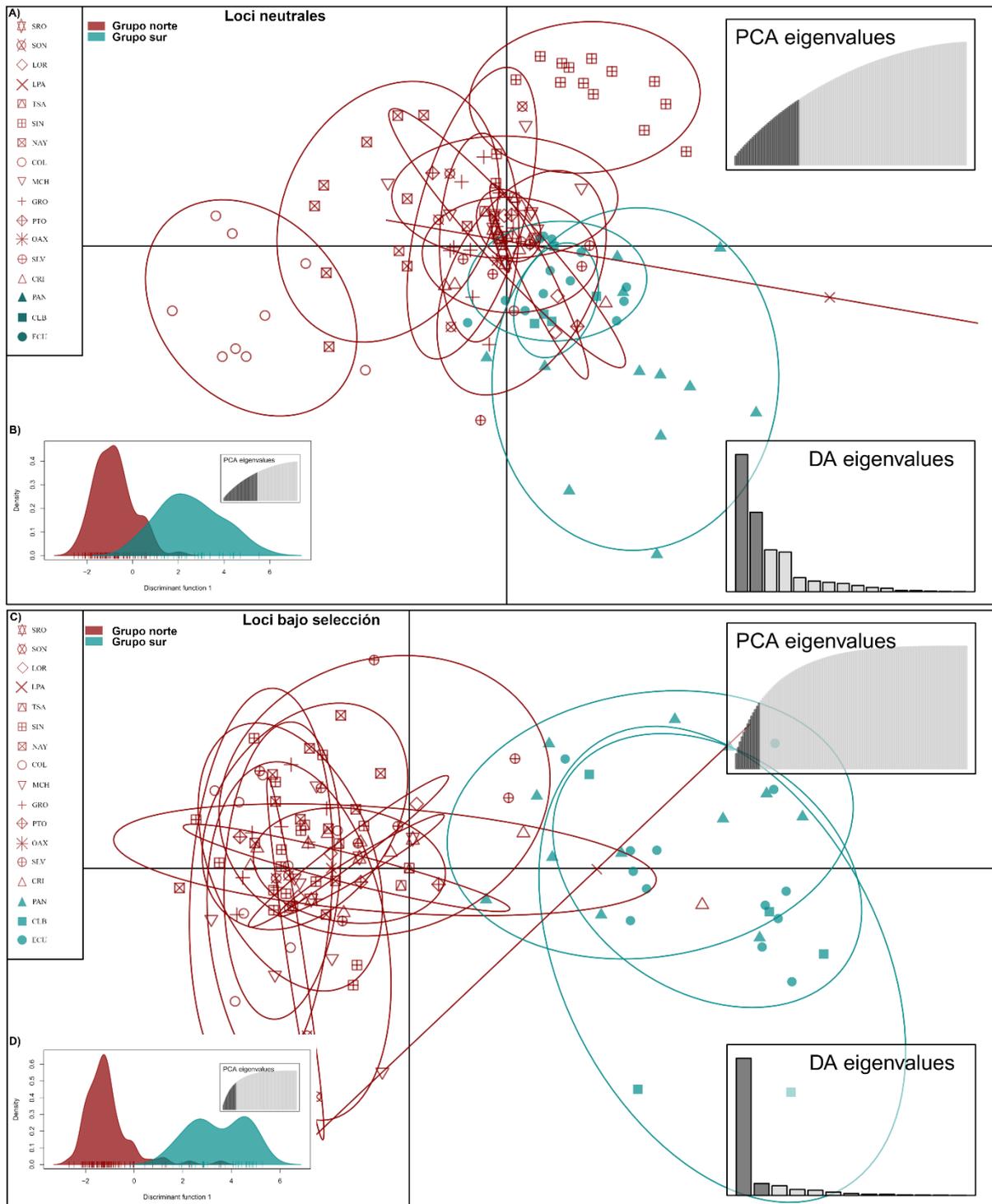


Fig. 22. Resultados de DAPC para *Lutjanus guttatus*: A) Loci neutrales sin agrupar, B) Loci neutrales agrupados, C) Loci bajo selección sin agrupar y D) Loci bajo selección agrupados. En rojo Grupo norte, en verde Grupo sur.

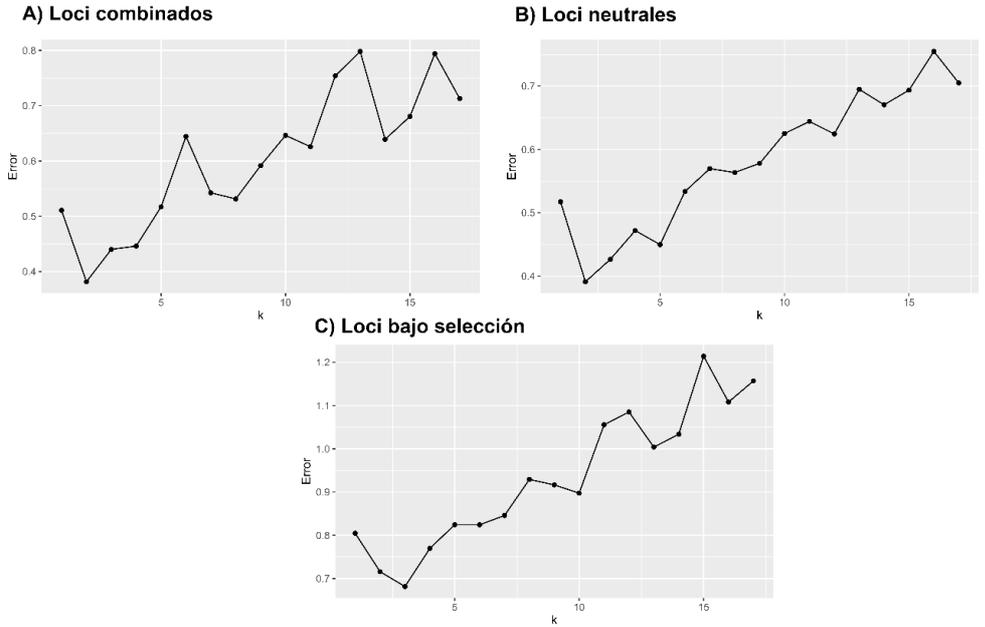


Fig. 23. Resultados del error de validación cruzada (CVE) obtenido por ADMIXTURE para: A) CL (2003 SNPs), B) NL (1858 SNPs) y C) OL (145 SNPs)

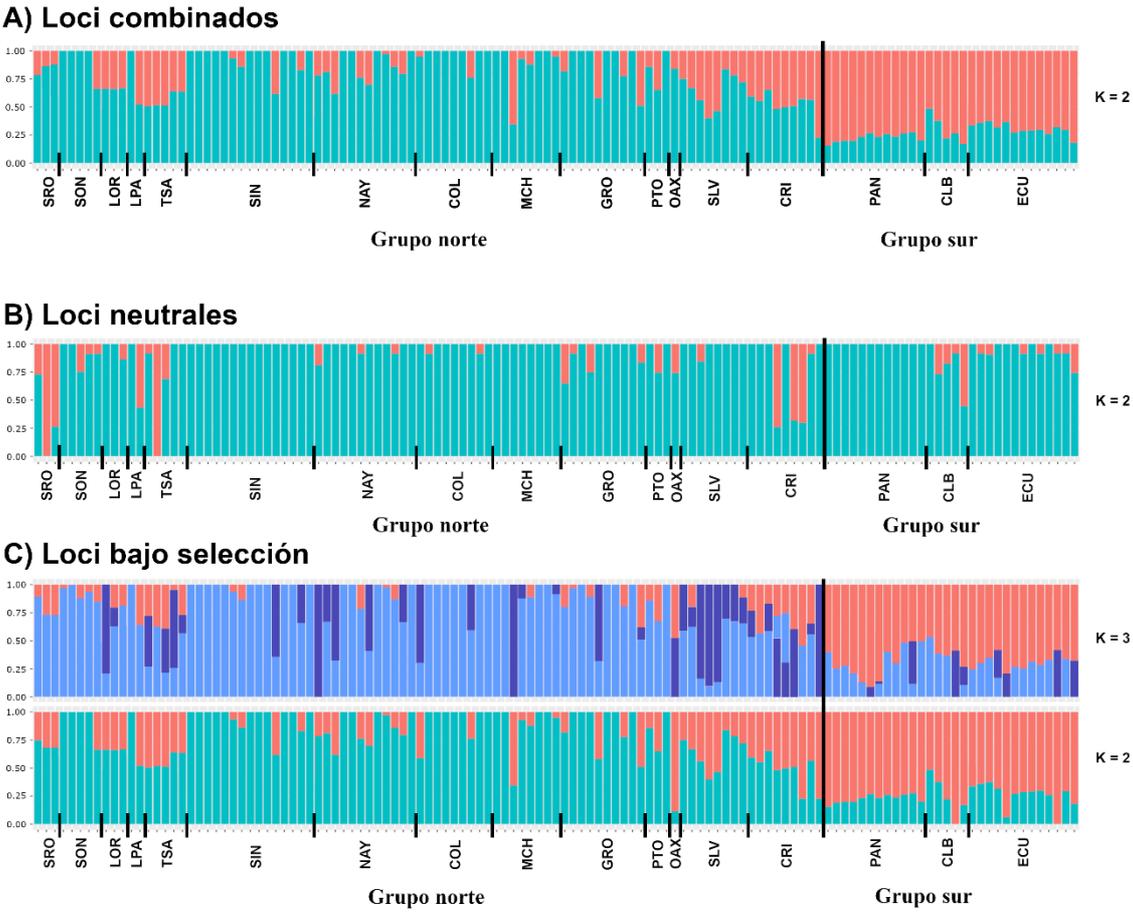


Fig. 24. Resultado del análisis ADMIXTURE para A) CL (2003 SNPs), B) NL (1858 SNPs) y C) OL (145 SNPs). Cada barra representa un individuo, los colores representan a cada clúster identificado (K). Las localidades están indicadas en la parte inferior de la gráfica.

9.4. Aislamiento por distancia (IBD), aislamiento por ambiente (IBE) y aislamiento por resistencia (IBR)

El resultado de la prueba de Mantel para evaluar el aislamiento por distancia (IBD), usando las tres bases y considerando tanto las distancias euclidianas como la profundidad máxima en la que habita la especie, no mostraron ninguna correlación entre la distancia geográfica y los valores de F_{ST} en *L. guttatus* (CL: $r = 0.0587$; $p = 0.278$, NL: $r = 0.1101$; $p = 0.1945$ y OL: $r = 0.0970$; $p = 0.174$). Debido a que los resultados resultaron similares, se optó por mostrar para la base combinada el resultado con las distancias euclidianas y para los loci por separado los resultados usando la profundidad máxima (Fig. 25). Asimismo, y para evitar confusión, todos los resultados presentados son aquellos en los que se emplearon las distancias euclidianas para realizar la prueba de Mantel.

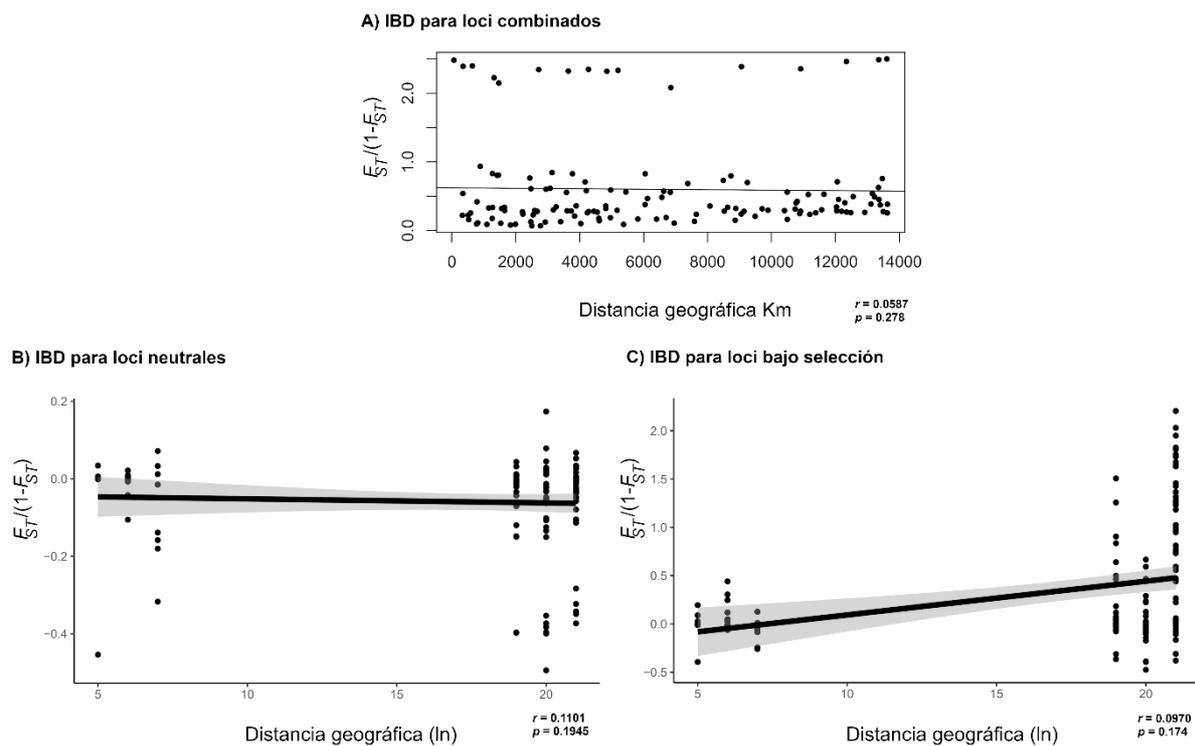


Fig. 25. Resultados de la prueba de mantel para evaluar aislamiento por distancia para A) CL (2003 SNPs), B) NL (1858 SNPs) y OL (145 SNPs).

En el caso de la prueba de Mantel que realizamos para detectar si la distancia geográfica tenía algún efecto dentro de los grupos principales (Norte y Sur), tampoco encontramos correlación entre la variación genética y la geografía (Fig. 26).

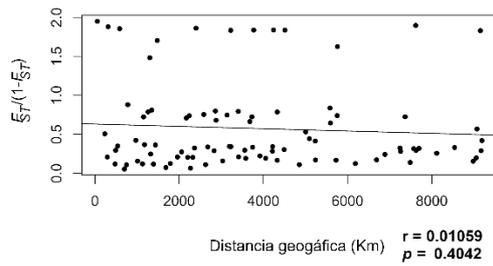
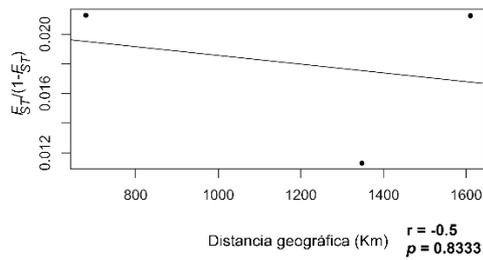
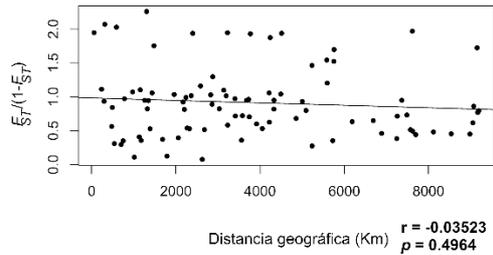
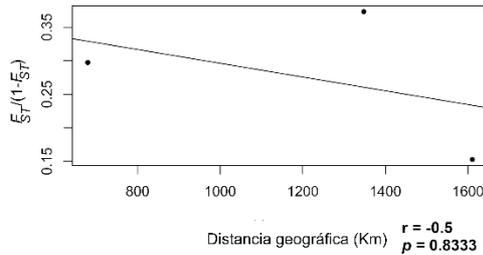
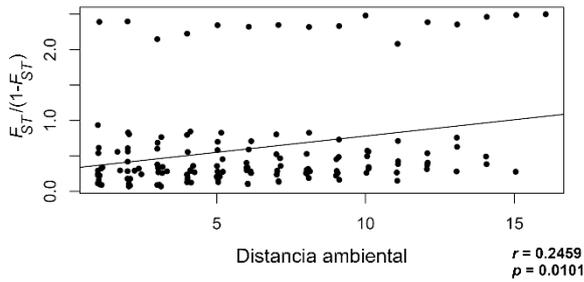
A) Loci neutrales Grupo norte**B) Loci neutrales Grupo sur****C) Loci bajo selección Grupo norte****D) Loci bajo selección Grupo sur**

Fig. 26. Resultados de la prueba de mantel para evaluar IBD para: Grupo norte A) NL (2003 SNPs). B) OL (145 SNPs) y Grupo sur C) NL (1858 SNPs), D) OL (145 SNPs).

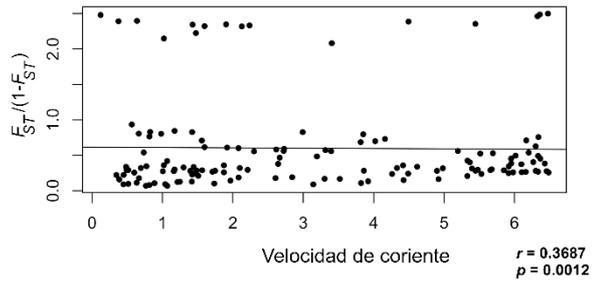
Contrario a los resultados obtenidos en el IBD, tanto el IBE e IBR mostraron patrones de correlación con respecto a la variación genética observada con los loci combinados. La prueba de Mantel para evaluar el IBE usando la base de los CL detectó que hay un efecto de las variables oceanográficas sobre la variación genética entre los dos grupos principales en *L. guttatus* ($r = 0.2459$; $p = 0.0101$) (Fig. 27A). Así mismo, el análisis de IBR determinó que existe una correlación entre la velocidad de las corrientes y los valores de F_{ST} ($r = 0.3687$; $p = 0.0012$) (Fig. 27B).

Los resultados de la prueba de Mantel para evaluar el IBE e IBR para los loci por separado (NL y OL), detectaron patrones contrastantes. Los resultados para los NL no detectaron una correlación entre las variables ambientales (IBE: $r = 0.1241$; $p = 0.1158$) y la velocidad de las corrientes (IBR: $r = 0.05345$; $p = 0.5898$), con respecto a la variación genética en *L. guttatus* (Fig. 27C y Fig. 27E). Mientras que, los resultados para la prueba de Mantel usando los valores de diferenciación genética (F_{ST}) calculados con la base OL con respecto a las variables ambientales y la velocidad de las corrientes, si detectaron una correlación significativa ($r = 0.3403$; $p = 0.0013$ y $r = 0.5207$; $p = 0.002$, respectivamente), siendo de nueva cuenta mayor la correlación por el efecto de las corrientes que el de las variables ambientales (Fig. 27D y 27F).

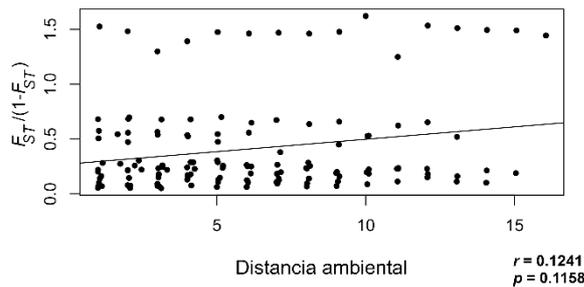
A) IBE Loci combinados



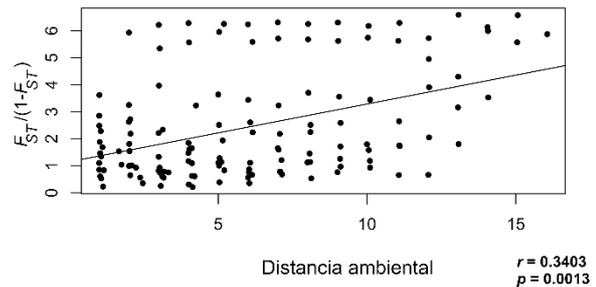
B) IBR Loci combinados



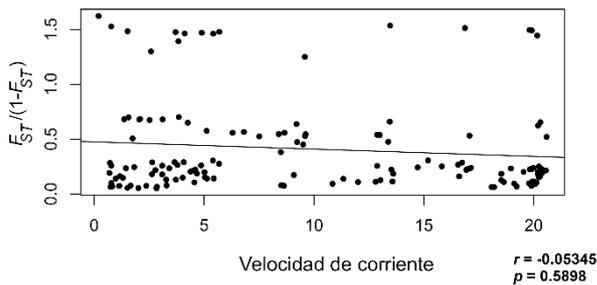
C) IBE Loci neutrales



D) IBE Loci bajo selección



E) IBR Loci neutrales



F) IBR Loci bajo selección

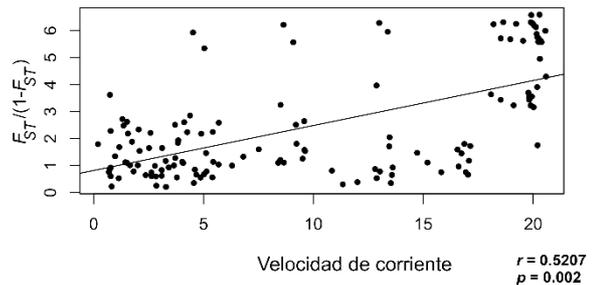


Fig. 27. Pruebas de mantel para evaluar IBE y IBR para: A) CL (2003 SNPs), B) CL (2003 SNPs), C) NL (1858 SNPs), D) OL (145 SNPs), E) NL (1858 SNPs) y OL (145 SNPs).

9.5. Variación genética en el espacio geográfico

El análisis de la estructura genética relacionada con el espacio geográficos (EEMS) empleando la base CL, identifica una posible barrera al flujo genético que divide a los Grupos Norte y Sur, esta barrera se encuentra en la región de Panamá y es coincide con el giro de la bahía de Panamá (PBG, por sus siglas en inglés) (Fig. 28A). Los resultados del EEMS también sugieren una barrera a la conectividad poblacional frente a la entrada del Golfo de California (Fig. 28A), la cual podría limitar la migración de organismos entre las costas del Pacífico Mexicano (NAY, COL, MCH y GRO), con respecto de las localidades que se encuentran dentro del Golfo de California (Fig. 28A). Adicionalmente, se observa un limitado flujo de organismos a lo largo de la costa, ya que la tasa de migración recuperada por el EEMS es cercana a cero, lo cual

podría estar relacionado con la poca capacidad de migración que tienen los organismos adultos. Por otro lado, los resultados de EEMS sugieren un corredor para la migración el cual posiblemente esté relacionado con la Corriente Costera de Costa Rica (CCCR) (Fig. 28A), lo cual refuerza la hipótesis de que el movimiento de organismos en *L. guttatus* es realizado durante su período larval.

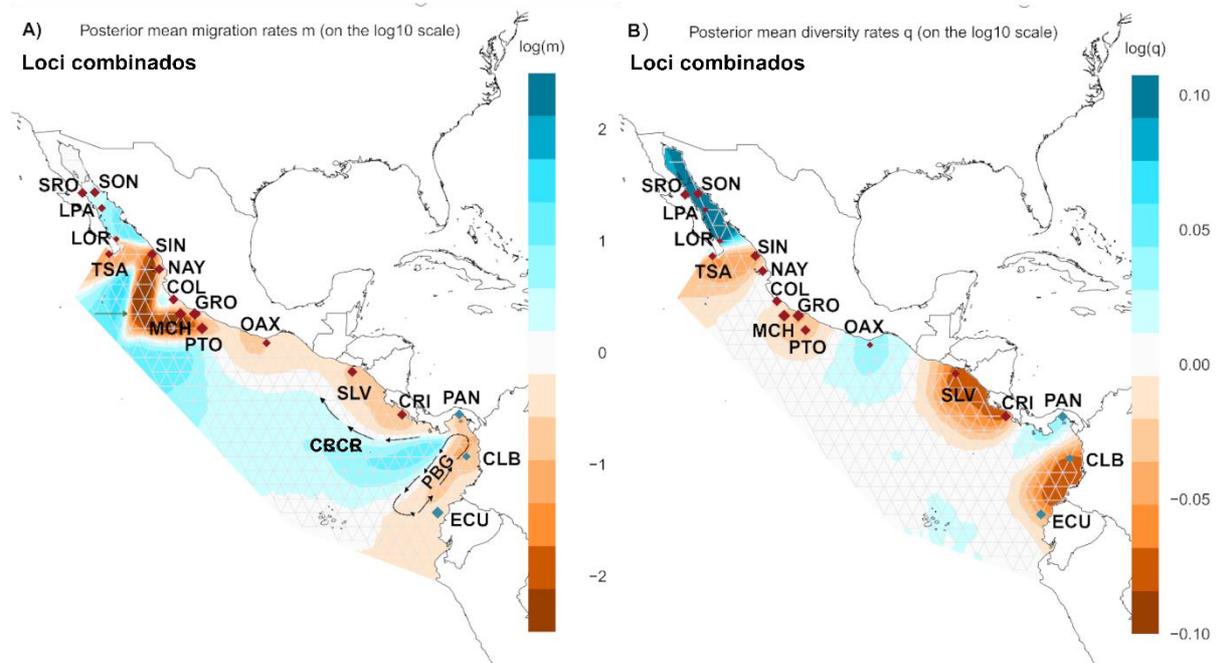


Fig. 28. Modelo de estimación de superficie de migración efectiva (EEMS, por sus siglas en inglés), basada en CL (2003 SNPs): A) Tasa de migración (m), en azul se indican los valores donde la migración es mayor al promedio; en café la migración menor al promedio. La flecha verde indica posibles barreras al flujo genético. PBG: Giro del Golfo de Panamá, CCCR: Corriente costera de Costa Rica. B) Tasa de diversidad genética calculada mediante EEMS, en azul se indica valores superiores al promedio, en café valores inferiores al promedio.

La evaluación de la estructura espacial y la superficie de migración efectiva utilizando los NL, encontró parches de migración a través de la zona de distribución de *L. guttatus* en dos puntos, uno en el Golfo de California, entre las localidades de LPA y LOR, y un segundo sitio entre las costas de NAY y COL (Fig. 29A). De igual forma se recuperó el corredor relacionado con la CCCR observado también con los CL, el cual fluye hacia el norte. No se encontró una clara barrera entre los dos grupos principales (Norte y Sur), aunque si se observa que el flujo entre CRI y PAN es restringido. Sin embargo, se encontró la barrera al flujo frente a la entrada del Golfo de California (Fig. 29A). Los resultados con la base de loci bajo selección (OL) son contrastantes con los obtenidos con los NL, ya que se recuperó la barrera al flujo entre los dos grupos principales en la zona de Panamá, que está relacionada con el giro de la bahía del

Golfo de Panamá (PBG, por sus siglas en inglés), el cual coincide con lo observado con los datos del CL. Así mismo, la barrera frente a la entrada del Golfo de California fue encontrada (Fig. 29B). Igualmente, el corredor asociado a la CCCR fue obtenido con los OL. Por último, se recuperaron dos zonas que permiten la migración, una de las cuales coincide con la recuperada con los NL (entre NAY y COL) y una segunda zona que se encuentra entre las costas de PAN, CLB y ECU, en el Grupo Sur (Fig. 29B).

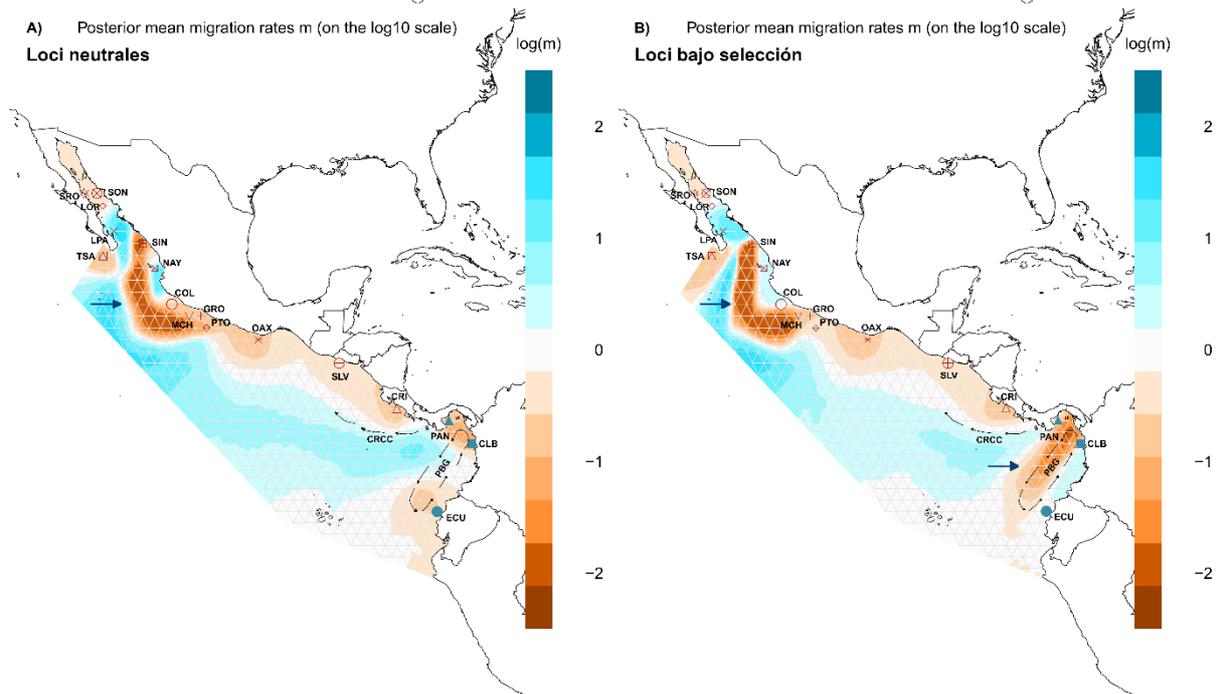


Fig. 29. Modelo de estimación de superficie de migración efectiva (EEMS, por sus siglas en inglés), basada en A) NL (1858 SNPs) y B) OL (145 SNPs). Tasa de migración (m) en azul se indican los valores donde la migración es superior al promedio; en café la migración es menor al promedio. Las posibles barreras al flujo genético son indicadas con una flecha azul. PBG: Giro del Golfo de Panamá, CRCC (Corriente Costera de Costa Rica).

La diversidad genética relacionada con el espacio geográfico calculada mediante el análisis de EEMS para la base CL, mostró que el Grupo Norte presenta una mayor tasa de diversidad en las localidades de SRO, SON, LPA, LOR, y la menor diversidad fue observada en CRI y el SLV (Fig. 28B). En el caso del Grupo Sur, la localidad que presentó mayor diversidad fue PAN, y la menor fue calculada para ECU (Fig. 28B).

En cuanto a los resultados de las bases de los NL y OL, coinciden con las localidades que presentan mayores tasas de diversidad para los datos de CL (SOR, LOR y LPA para el Grupo Norte y PAN para el Grupo Sur) (Fig. 30). En cuanto a la menor diversidad calculada para el Grupo Norte usando los NL, esta fue observada en las

localidades de MCH, GRO y SLV (Fig. 30A), mientras que, en el caso del Grupo Sur con los OL, la menor diversidad fue encontrada en las localidades de CLB y ECU (Fig. 30B).

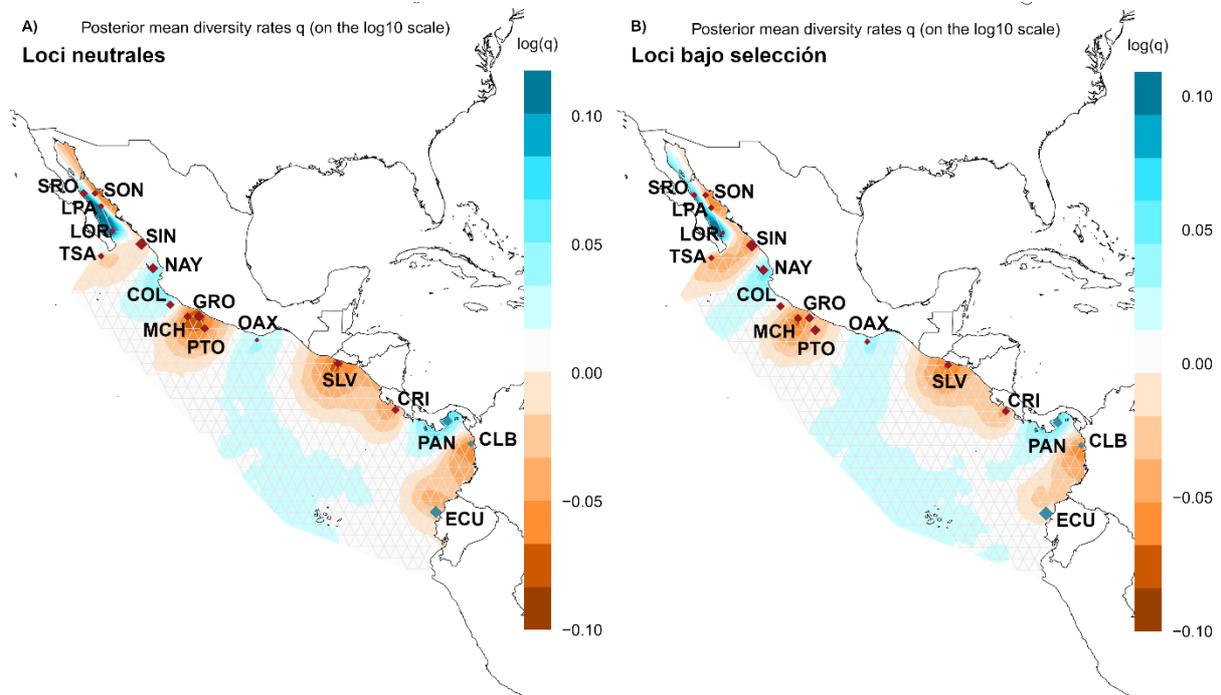


Fig. 30. Diversidad genética calculada mediante EEMS, para A) NL (1858 SNPs), B) OL (145 SNPs). En azul se indican los valores de mayor diversidad; en café se indican valores bajos de diversidad.

9.6. Demografía Histórica

El escenario de expansión poblacional no se pudo confirmar con el análisis de ABC, esto debido a que la representación gráfica usando el análisis de componentes principales (PCA), no mostro un buen ajuste entre los datos observados y los datos simulados (Fig. 31) a pesar de emplear varias combinaciones de valores 'a priori' en los parámetros de interés.

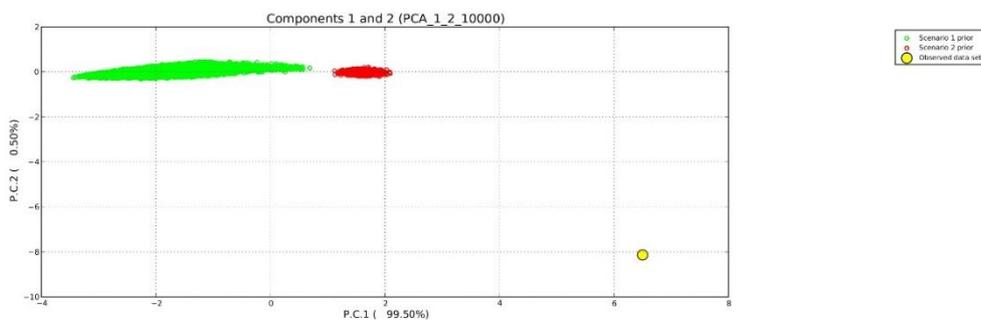


Fig. 31. Análisis de Componentes Principales de la evaluación de la demografía histórica usando el método ABC.

El tamaño efectivo poblacional histórico considerando una población panmíctica fue de 47.6 basado en un criterio de alelos poco frecuentes de $P_{crit} = 0.05$ (valores min y max de 46.2 y 49.1, respectivamente) (Tabla 11A). Por otro lado, al evaluar por separado los Grupos Norte y Sur, se determinó un tamaño poblacional mayor para el Grupo Norte $N_e = 53.1$ (min = 51.2; max = 55.2), y menor para el Grupo Sur $N_e = 37.8$ (min = 34.2; max = 42.2) (Tabla 11B).

Tabla 11. Tamaño efectivo poblacional calculados con los NL (1858 SNPs), siguiendo el criterio de desequilibrio de ligamiento aleatorio. FAB = Frecuencia alela más baja. N_e = tamaño efectivo, Min = Valor mínimo de tamaño efectivo poblacional, Max = valor máximo de tamaño efectivo poblacional, CIs = Intervalo de confianza.

	FAB = 0.02 (95% CIs)			FAB = 0.05 (95% CIs)		
	N_e	Min	Max	N_e	Min	Max
A) Una población						
Un grupo	103.5	100.7	106.4	47.6	46.2	49.1
B) Dos poblaciones						
Grupo norte	121.1	116.6	125.9	53.1	51.2	55.2
Grupo sur	55.5	51.1	60.7	37.8	34.2	42.2

X. DISCUSIÓN

El presente estudio representa la evaluación genético-poblacional más completa de *Lutjanus guttatus* hasta la fecha, en la cual se empleó la mayor cantidad de localidades en su rango de distribución a lo largo de la costa continental del POT (Fig. 14), además de utilizar uno de los protocolos más novedosos (RADcap), para generar marcadores SNPs. Asimismo, es la primera vez que se encuentra evidencia de adaptación local asociada a loci bajo selección (OL), los que son responsables de promover una diferenciación genética en la especie.

10.1. Diversidad genética

Los niveles de diversidad genética obtenidos con las tres bases utilizadas (CL, NL y OL) en *Lutjanus guttatus* (Fig. 19; Tabla 5) resultaron bajos en comparación con otras especies de peces que se distribuyen en el POT, pero que, a diferencia del presente trabajo emplearon otro tipo de marcadores genéticos (microsatélites; García de León *et al.*, 2018; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). Sin embargo, nuestros resultados de baja diversidad resultaron similares a los observados en trabajos donde se utilizaron SNPs. Tal es el caso de la diversidad genética reportada para las especies de los géneros *Jasus* (*Jasus caveorum*, $H_0 = 0.012$ y *J. paulensis*, $H_0 = 0.087$) (Silva *et al.*, 2021), y *Symphodus* (*Symphodus tinca*, $H_0 = 0.2821-0.302$ y *S. ocellatus*, $H_0 = 0.293-0.301$) (Torrado *et al.*, 2020), así como en la especie dulceacuícola *Esox lucius* ($H_0 = 0.17-0.28$) (Sunde *et al.*, 2022). Debido a esto, es necesario tener una apropiada evaluación de la heterocigosidad obtenida usando SNPs, para evitar conclusiones erróneas que conduzcan a considerar que las especies en estudio presentan poca diversidad genética.

Considerando que los valores de diversidad obtenidos con SNPs deben ser discutidos con cautela, no podemos descartar que la endogamia pueda explicar la deficiencia de heterocigotos observada en el presente estudio. Se ha observado que la endogamia afecta sobre todo a especies que están sujetas a actividades pesqueras, las cuales en muchos casos tienen un elevado valor económico y por tanto pueden estar sujetas a sobre explotación, generando así una disminución de la diversidad genética. Esto se ha reportado en la especie de trucha *Salvelinus fontinalis*, donde fue detectado un

efecto de la endogamia sobre las poblaciones, aunque estos resultados se basaron en microsatélites (Castric *et al.*, 2002). Recientemente, el efecto de la endogamia ha sido corroborado usando SNPs en especies que se cultivan, como es el caso de *Hucho bleekeri* (Zhang *et al.*, 2019) así como en truchas arcoíris (D'Ambrosio *et al.*, 2019). Debido a esto, en el caso de *L. guttatus*, que es explotada intensivamente para el consumo humano (Hernández-Álvarez, 2015), no puede descartarse el efecto de la actividad humana en la disminución poblacional, ya que tanto su sobreexplotación, así como el cultivo extensivo que se realiza en algunas partes del país podría disminuir las poblaciones y por tanto promover endogamia.

Sin embargo, aunque la endogamia podría ser una explicación plausible para los bajos niveles de diversidad genética encontrados, debemos también tener en cuenta que en especies marinas con grandes tamaños poblacionales (como es el caso de *L. guttatus*), se estima que los alelos efectivos que pueden tener sus poblaciones son altos, por lo que la endogamia podría ser una posibilidad remota. Debido a esto, se deben sopesar otros factores limitantes de los SNPs. Sunde *et al.* (2022) analizaron la efectividad que presentan tanto los microsatélites como los SNPs para detectar estructuración genética y para calcular los valores de diversidad. Los resultados obtenidos les permitieron concluir que los microsatélites son más eficaces en la cuantificación y caracterización de la diversidad genética, mientras que los SNPs resultaron ser mejores marcadores para detectar estructuración genética entre poblaciones. Considerando esto, nuestros resultados concuerdan con esta conclusión general, ya que recuperamos valores bajos de diversidad genética global (NL: $H_e = 0.097$ y OL: $H_e = 0.102$), pero, una diferenciación genética muy clara en dos grupos principales (Norte y Sur).

Nuestros resultados son contrastantes con los valores de diversidad reportados en los trabajos previos de la especie, en los que se han encontrado altos niveles de diversidad haplotípica ($h = 0.998$), y recientemente un alto valor de diversidad genética (H_e cercana a 1; $H_e = 0.99$) en un estudio donde se emplearon microsatélites (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020; Díaz-Viloria *et al.*, 2023). De igual forma, al tener en cuenta los valores de diversidad que se han obtenido usando microsatélites en otros lutjanidos que se distribuyen en el POT, como es el caso de *Lutjanus peru* ($H_e = 0.811$) y *L. argentiventris* ($H_e = 0.757$) (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021), hace necesario un

trabajo más preciso y con el objetivo claro de determinar la diversidad genética, comparando diversos marcadores; para de esta forma poder caracterizar la diversidad genética de *L. guttatus* en particular y de los lutjanidos en general. Es por esto, considerando que el presente trabajo se trata de la primera aproximación para calcular la diversidad genética de *L. guttatus* usando SNPs, no quisimos dejar de considerar todas las posibles alternativas que pudieran responder a la baja diversidad genética, por lo que a continuación discutimos otros factores que pudieran estar relacionados con los bajos niveles de diversidad obtenidos.

Considerando nuestros resultados de diversidad, podemos por tanto secundar que existen limitaciones intrínsecas en los datos generados a partir de SNPs que nos permitan explicar la baja diversidad genética calculada en *L. guttatus*. Entre las limitantes que se han discutido para este tipo de marcadores encontramos que la cantidad de alelos que pueden ser utilizados es uno de los mayores inconvenientes, ya que se trata de marcadores bi-alelicos, por lo que esto podría subestimar los valores de diversidad (Zimmerman *et al.*, 2020; Sunde *et al.*, 2022). Otra causa importante subyace en el protocolo mismo, ya que en la fragmentación del genoma por medio de enzimas de restricción se ha descrito un fenómeno conocido como alelos nulos (allele drop out), el cual se relaciona con que ciertos alelos no se puedan obtener, ya que en el genoma se puede presentar una mutación en el sitio de reconocimiento de la enzima, generando de esta forma que no puedan recuperarse las dos copias del mismo y por tanto un organismo se pueda considerar como homocigoto aunque no lo sea, e inclusive en otros casos, el alelo en cuestión no se logra secuenciar (Luca *et al.*, 2011; Gautier *et al.*, 2013). Aunque estas limitaciones parecieran ser más razonables para nuestros resultados, no se llevaron a cabo análisis más profundos para determinar las causas en particular de nuestros valores bajo de diversidad, por lo que es necesario un trabajo futuro en que se realice un análisis más puntual.

10.2. Estructura genética en *Lutjanus guttatus*

Los resultados generados en el presente trabajo refuerzan la idea de que un número significativo de marcadores polimórficos, como los SNPs, son útiles para definir de forma más eficiente en los pargos y particularmente en *L. guttatus* los niveles de

diferenciación genética. Nuestros análisis recuperaron un patrón de variación genética contrastante entre los loci neutrales (NL) y los loci bajo selección (OL). Es por esto que deducimos que los datos genómicos son una mejor herramienta para contestar preguntas relacionadas con la diferenciación genética poblacional en la especie. Los patrones encontrados en *L. guttatus*, posiblemente se asocian a un modelo de selección-migración. Los OL muestran una clara separación de la especie en dos clústeres genéticos, siendo estos el Grupo Norte y el Grupo Sur, que también coinciden con los resultados obtenidos empleando los loci combinados (CL) ($F_{CT} = 0.4861$; $p < 0.001$; $F_{CT} = 0.0553$; $p = 0.001$; Tabla 10A y 10C respectivamente), esto es contrario a lo observado con los NL, los cuales no recobraron ningún patrón de diferenciación genética (Tabla 10B). La falta de diferenciación recuperada con los marcadores neutrales, tanto los obtenidos en el presente trabajo como en los mitocondriales previos (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020), y recientemente con microsatélites (Díaz-Viloria *et al.*, 2023), sugieren que existe el suficiente flujo genético para mantener la conectividad entre las poblaciones de *L. guttatus* a lo largo de su rango de distribución, la cual es mediada probablemente por una dispersión larvaria, como ha sido documentada en especies pelágicas y costeras de amplia distribución (Ward *et al.*, 1997; Díaz-Jaimes *et al.*, 2010; Reguera-Rouzaud, *et al.*, 2020).

Muchos estudios han utilizado marcadores neutrales, los cuales usualmente revelan una baja o nula señal de estructuración genética como consecuencia de la existencia de un constante flujo genético, promoviendo así la hipótesis de que la mayoría de las especies en el ambiente marino presentan un patrón panmíctico (Mamoozadeh *et al.*, 2020; Maroso *et al.*, 2021). Los trabajos previos recuperaron este patrón de panmixia en *L. guttatus*, el cual sería soportado por nuestro resultado de nula diferenciación genética observado con los NL, esto estaría indicando que existe un flujo constante de organismos entre diferentes poblaciones a lo largo de su rango de distribución. Por otro lado, los resultados generados a partir de loci adaptativos ofrecen una oportunidad de detectar diferencias en un nivel ecológico y en una escala más fina, lo cual resulta útil en la caracterización genética de especies con un constante flujo, como es el caso de *L. guttatus*, pero que podrían estar sujetos a un proceso selectivo por la variación ambiental.

Aunque en el presente trabajo los resultados indican una contrastante diferencia entre los NL y los OL en la diferenciación genética del pargo rosado, otros trabajos han mostrado que los SNPs neutrales son eficaces para detectar diferencias genéticas sutiles en organismos marinos, esto permite identificar patrones de variación genética en diferentes escalas. Como ejemplo tenemos lo reportado en la dorada *Sparus aurata*, donde con loci neutrales se detectaron tres posibles clústeres genéticos en el mar Mediterráneo, aunque esta variación no fue clara y estuvo muy poco soportada, contrario a lo encontrado con los loci bajo selección, con los cuales se recuperaron los tres grupos, y adicionalmente se determinaron dos grupos bien diferenciados en la región oriental del mar Mediterráneo, lo cual es promovido por una adaptación a las condiciones ambientales locales (Maroso *et al.*, 2021). En un estudio poblacional realizado en el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*), detectan una clara estructuración genética entre los océanos Atlántico, Índico y Pacífico, esto basado en loci neutrales. Adicionalmente, el análisis de 33 loci bajo selección determino niveles de diferenciación genética en una escala intra-oceánica en los océanos Pacífico e Índico (Pecoraro *et al.*, 2018). Lo anterior demuestra la utilidad de los SNPs para detectar variación genética debida a factores ecológicos, los cuales generalmente resultan en diferencias genéticas en escalas locales en organismos marinos de amplia distribución. Este último punto se confirma con nuestros resultados, los cuales indican que factores ambientales a una escala ecológica están influyendo en la estructuración de *L. guttatus*. Los loci bajo selección nos permiten, por tanto, entender cómo es que la heterogeneidad oceanográfica en el hábitat promueve la adaptación de los organismos a condiciones locales y, por otro lado, los procesos demográficos determinados con loci neutrales permite identificar procesos históricos.

Las diferencias genéticas observadas con los OL podrían estar relacionadas con adaptaciones locales a los factores ambientales en el POT, lo cual ha promovido una diferenciación de algunos loci en particular (Graham *et al.*, 2018). Los loci bajo selección han mostrado ser útiles para detectar patrones de diferenciación genética asociada a factores ambientales en especies marinas (Milano *et al.*, 2014; Torrado *et al.*, 2020). Desafortunadamente, la falta de un genoma de referencia para las especies no modelo dificulta identificar con precisión los genes involucrados en la respuesta a factores ambientales específicos que resultan en la estructuración genética de estas especies (Milano *et al.*, 2014). Esto lo corroboramos en la evaluación de los OL

generados en el presente trabajo, ya que empleando el algoritmo BLAST no se logró la identificación de alguna proteína que estuviera relacionada a algún gen que pudiera estar sujeto a selección. Así mismo, al realizar un escaneo utilizando un genoma de referencia de una especie del género *Lutjanus*, no fue posible determinar concretamente que región del genoma de *L. guttatus* podría estar sujeta a selección. Este resultado pone de manifiesto las limitantes que existen ante la falta de un genoma de referencia para la especie, pero no podemos dejar de considerar que el protocolo empleado en el presente estudio, también pudiera estar oscureciendo el análisis. Nuestro método combinado de fragmentación y captura de una región polimórfica del genoma de *L. guttatus*, el cual generó 1973 RAD loci de un tamaño de 280 pb, tuvo como resultado una mayor reducción en la representación del genoma de la especie (Hoffberg *et al.*, 2016), propiciando que no se hayan recuperado los datos suficientes para la delimitación de la región del genoma bajo selección.

Sin embargo, a pesar de las limitaciones que podríamos tener, consideramos que la selección es una fuerza evolutiva que está actuando sobre *L. guttatus*. Es por esto que, al encontrar que la selección tiene un efecto prominente en las poblaciones de *L. guttatus* al diferenciarla genéticamente, y que, por otro lado, los datos neutrales nos indican que la selección está actuando en presencia del flujo genético, nuestros resultados serían consistentes con un modelo de equilibrio entre la migración-selección (Graham *et al.*, 2018; Bernardi, 2022). El balance entre la migración y la selección juega un papel importante en la diferenciación genética de las poblaciones de especies marinas (Bernardi, 2022). Este modelo fue evaluado en el gobio bonito de las islas Galápagos en donde se concluyó que, si la selección es lo suficientemente fuerte para superar el efecto de la migración, se generan patrones de diferenciación en loci selectivos, pero no necesariamente en los neutrales, lo cual resulta en patrones contrastantes entre ambos (Ribeiro *et al.*, 2011; Graham *et al.*, 2018; Bernardi, 2022).

Los resultados de diferenciación genética obtenidos con loci bajo selección tienen limitaciones, sobre todo para elucidar los efectos de los procesos demográficos, así como de otras fuerzas evolutivas como puede ser la deriva genética, y por lo tanto su utilidad para determinar la historia evolutiva de las poblaciones podría ser menor. Los resultados contrastantes recuperados en el presente trabajo entre los loci neutrales y bajo selección en *L. guttatus* podrían indicar que los procesos demográficos, como la

migración, podría no tener una influencia determinante en la señal de estructura genética observada en los loci bajo selección en la especie.

10.3. Condiciones oceanográficas que influyen en la variación genética

Generalmente, la estructura genética que se ha encontrado en peces fuertemente asociados al hábitat rocoso en el POT se ha relacionado con la presencia de dos brechas arenosas que interrumpen la continuidad del hábitat, las cuales actúan como barreras al flujo genético (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019; Torres-Hernández *et al.*, 2022). Sin embargo, en el grupo de los pargos, los cuales se caracterizan por un flujo genético continuo promovido por la dispersión larval, sumado a la capacidad que tienen los individuos juveniles de desplazarse en manglares y boca de estuarios, hacen que estas brechas arenosas sean menos efectivas como barreras al flujo genético (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). Lo anterior resulta congruente con nuestros resultados, ya que la señal de diferenciación genética que recuperamos (Grupos Norte y Sur), se relaciona más con las condiciones oceanográficas y la velocidad de las corrientes en el Golfo de Panamá (GP), que con la presencia de las brechas arenosas (Fig. 28 y Fig. 29).

Las complejas condiciones oceanográficas que se encuentran en el GP han promovido un alto nivel de endemismo en esta región, además de generar procesos de especiación en la zona (Robertson & Allen, 2015; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019). Entre los factores oceanográficos del GP que generan diferenciación poblacional encontramos a los vientos estacionales, los cuales promueven una fuerte variación en la intensidad de las surgencias entre el este y el oeste en la región, la cual ha permitido cambios en la intensidad de crecimiento de arrecifes de coral en esta zona (Randall *et al.*, 2020). Además de lo anterior, el sistema de vientos en el GP generan variación en la temperatura, salinidad, oxígeno, entre otros factores, lo cual produce heterogeneidad de las condiciones del ambiente, que ha promovido estructuración genética en peces, como se ha reportado en el gobio cabeza roja *Elacatinus punctulatus* (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019), y en especies de pargos como es el caso del pargo rojo (*L. peru*), y el pargo amarillo (*L. argentiventris*) (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). La correlación que encontramos entre los loci bajo selección y las variables ambientales utilizadas (temperatura, salinidad, productividad primaria, fitoplancton y

concentración de clorofila) (Fig. 27B y 27D), indica que el ambiente está jugando un papel fundamental en la diferenciación poblacional que el aislamiento geográfico, esto se corrobora con los valores no significativos de la correlación entre la diferenciación genética y la distancia geográfica (Figs. 25 y 26). Por tanto, la variación genética de las localidades del Grupo Sur, que se asocian a las variables ambientales, coincide con la hipótesis de que la heterogeneidad de las condiciones oceanográficas en el GP está jugando un papel importante en la adaptación de los organismos en la zona sur, lo cual ya había sido descrito en el gobio cabeza roja (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019).

La variación genética entre los Grupos Norte y Sur en *L. guttatus* muestra una diferenciación entre las localidades de Costa Rica y Panamá, lo cual refuerza la idea de que en el GP las condiciones oceanográficas son importantes. En esta área el sistema de corrientes y la temperatura son influenciados por la zona de convergencia intertropical (ITCZ). La ITCZ se localiza al norte del ecuador (entre los 4°-8° N), y representa el límite entre el norte y sur del Pacífico oriental, al sur de la ITCZ se encuentra la lengua fría ecuatorial, la cual es influenciada en gran medida por las corrientes de agua fría provenientes de Perú, así como de la zona de surgencias del Ecuador (Wyrki, 1981). La ITCZ, también representa el límite de la alberca cálida del Pacífico oriental (PCPO), la cual se encuentra a lo largo de la costa suroeste de México y Guatemala, en la PCPO predominan aguas cálidas superficiales, baja salinidad y una termoclina poco profunda (Fiedler & Lavín, 2017). Estas características oceanográficas se relacionan de igual forma con las cinco variables que explicaban la variación genética en *L. guttatus* (Fig. 27D), por lo que estas condiciones oceanográficas contrastantes podrían estar influenciando las diferencias observadas debido a la selección adaptativa, lo que genera que el flujo genético promovido por la ITCZ no sea lo suficientemente significativo para homogeneizar las frecuencias alélicas de los loci bajo selección.

Además de lo anterior, la plataforma continental de Panamá se caracteriza por los complejos patrones oceanográficos causados por la existencia de dos cuencas semiabiertas con contrastantes características hidrográficas (D´Croz & O´Dea, 2007). En la costa de Panamá tienen sus límites las contra corrientes provenientes del norte del POT, lo que provoca que haya una bifurcación de las corrientes generando un flujo hacia el norte y sur del POT, incrementando de esta manera las diferencias de los

factores ambientales. La corriente que fluye hacia el sur alcanza las costas de Sudamérica, lo cual podría explicar los alelos compartidos entre las localidades de PAN, CLB y ECU, lo que provoca que no haya diferencias genéticas entre estas localidades. Por otro lado, la corriente que fluye hacia el norte disminuye su intensidad debido a la barrera que representa la península de Azuero, lo cual podría limitar la migración de los organismos hacia el norte (Figs. 28A, 29A, 29C). El limitado flujo genético podría por tanto resultar en la interrupción del balance migración-selección, generando de esta forma el patrón de diferenciación observado en los loci bajo selección (Tabla 10, Figs. 24A y 24C).

El efecto que las corrientes podrían tener en la interrupción del flujo es soportado con los resultados obtenidos en el análisis de EEMS. El análisis de EEMS determinó una barrera al flujo genético frente a las costas del Pacífico mexicano, en las costas de Sinaloa y justo en la entrada del Golfo de California (Figs. 28 y 29). Aunque ninguno de los demás análisis F_{ST} (Tablas, 6, 7 y 8), SAMOVA (Tabla 9), AMOVA (Tabla 10), DAPC (Figs. 21 y 22) o ADMIXTURE (Fig. 24), indicó una posible diferenciación genética en esta región, aunque se debe tener cautela con este resultado debido a los datos faltantes y a los poco individuos utilizados de las localidades del Golfo de California. Sin embargo, podríamos considerar que las corrientes en la entrada del Golfo de California podrían estar promoviendo una barrera al flujo. Esto lo podemos constatar con la correlación que recuperamos entre la velocidad de las corrientes y la diferenciación genética de los loci bajo selección (Figs. 27D y 27F), lo que resulta consistente con la idea de que las corrientes podrían limitar la migración de organismos en ciertas localidades del Grupo Norte. El efecto de las corrientes en la estructura genética de organismos en la zona del Golfo de California y Sinaloa ha sido discutido previamente, encontrando que la migración de organismos que habitan en el Golfo de California hacía la costa pacífica mexicana se realiza mediante la acción de las corrientes, las cuales a su vez funcionan como una barrera de los organismos de la costa pacífica mexicana hacía el Golfo de California (Sandoval-Huerta *et al.*, 2019). Se ha encontrado que también la disponibilidad de hábitat en esta zona tiene una influencia en la estructuración genética de algunos lutjanidos (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). Esto sugiere que es necesaria una futura exploración utilizando una mayor cantidad de organismos, así como otros marcadores genómicos para determinar si algún factor oceanográfico está actuando como barrera en *L. guttatus*.

10.4. Distancia geográfica y migración espacial

La distancia geográfica no mostró tener algún efecto en la diferenciación genética de las poblaciones de *L. guttatus* usando tanto los CL, como los loci por separado NL y OL. Por tanto, no se encontró una correlación significativa entre ambas variables, por lo que podemos concluir que el IBD no tiene efecto en la estructuración genética de la especie (Figs. 25 y 26), lo anterior refuerza la idea de que la migración está actuando en las poblaciones. Los patrones de migración recobrados con el análisis EEMS, indican que las corrientes parecen estar facilitando la dispersión larval, y por otro lado la migración de organismos sería limitada cerca de la línea costera, al observarse valores menores al promedio (Figs. 28 y 29). La fuerte asociación a la costa de los organismos adultos de *L. guttatus* soporta la hipótesis de que la dispersión en la especie es realizada a través de deriva larvaria (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020), esto coincide ampliamente con el modelo de migración observado en el resultado de EEMS, donde un corredor de migración se encontró fuera de la línea costera y se puede asociar a la CCCR (Fig. 29).

En el caso de *Lutjanus guttatus*, la dispersión larvaria parece ser lo suficientemente fuerte para homogeneizar las regiones neutrales del genoma a lo largo de su zona de distribución, pero al estar actuando al mismo tiempo la selección, resulta en una diferenciación de los loci bajo selección y por tanto es posible determinar un proceso adaptativo local. Nuestros resultados coinciden con lo observado en el gobio *Lythrypnus gilberti*, en donde el sistema de corrientes del archipiélago de las Galápagos permite un flujo genético constante homogenizando las regiones neutrales del genoma de la especie, lo cual es contrario con los resultados obtenidos con loci bajo selección, en donde se observa que factores oceanográficos como la temperatura estarían promoviendo una adaptación local y por tanto una diferenciación genética de una región del genoma de la especie (Bernardi, 2022).

El efecto que los gradientes oceanográficos y los factores ambientales tienen sobre especies de pargos distribuidas en el POT se ha evaluado empleando microsatélites, los cuales han encontrado que, a escalas espaciales menores a 1000 Km, las variables oceanográficas tienen un efecto en la variación genética de las especies, pero en escalas mayores, las corrientes y la distancia geográfica son un factor

determinante en la estructuración genética (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). El movimiento de los organismos adultos está limitado a las áreas de alimentación cercanas a la costa, mientras que los juveniles pueden moverse a través de los mangles y bocas de los ríos, por lo que la disponibilidad de hábitat también juega un papel importante en la migración en este estadio (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020; Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). El patrón de migración que mejor describe la falta de diferenciación genética en *L. guttatus* ha sido relacionado a la dispersión larvaria mediada por el sistema de corrientes del POT. Sin embargo, las corrientes en el Golfo de Panamá parecen tener un efecto en la variación genética para algunas especies, limitando sobre todo la dispersión de especies arrecifales (Pedraza-Marrón, 2014; Sandoval-Huerta *et al.*, 2019). Las corrientes en esta región han mostrado tener un efecto en la variación genética de los lutjanidos (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021). Estudios genéticos en *L. peru* basados en datos de microsatélites rechazan el modelo de panmixía después de analizar el papel que juega la dispersión larval en la estructuración genética de la especie (Munguia-Vega *et al.*, 2018). Así mismo, estudios recientes empleando microsatélites encontraron que, tanto los factores oceanográficos como las corrientes, han contribuido en la estructuración genética de *L. peru* y *L. argentiventris* a lo largo de las costas del POT, pero que en el caso de *L. guttatus*, esta variación genética basada en microsatélites es inexistente (Reguera-Rouzaud *et al.*, 2021; Díaz-Vilora *et al.*, 2023). Estos resultados previos son consistentes con los obtenidos en el presente trabajo, en donde tanto los factores oceanográficos como las corrientes y las variables ambientales, tienen un efecto en la variación genética en regiones sujetas a selección de las poblaciones de *L. guttatus* (Fig. 27F), por lo tanto, podemos considerar que el ambiente heterogéneo del POT está actuando como una presión selectiva en el grupo de los pargos.

10.5. Demografía histórica

La limitada representación del genoma de *L. guttatus* empleado en el presente estudio puede ser una de las respuestas a la ausencia de evidencia de expansión poblacional que pudo sufrir la especie. El protocolo RADcap selecciona regiones polimórficas del genoma (Hoffberg *et al.*, 2016), lo que podría generar que los loci evaluados no sean capaces de responder a procesos históricos, ya que se espera que estas regiones polimórficas, y sobre todo los datos obtenidos mediante la fragmentación del genoma,

sean más eficientes en la evaluación de eventos demográficos contemporáneos (Nunziata & Weisrock, 2018). A pesar de esto, no descartamos que la especie haya sufrido eventos de expansión poblacional a lo largo de los períodos interglaciares como fue reportado basado en datos mitocondriales por Hernández-Álvarez (2015), ya que estos marcadores son adecuados en la estimación de procesos históricos. Adicionalmente, el ADN mitocondrial corresponde a $\frac{1}{4}$ el tamaño efectivo del genoma nuclear y por lo mismo es más sensible a las fluctuaciones en el tamaño de las poblaciones. Dichas fluctuaciones obedecieron a la variación de la temperatura en los periodos glaciares, disminuyendo el tamaño poblacional en una gran cantidad de especies tropicales, como es el caso de *L. guttatus* (Hewitt, 1996; Hernández-Álvarez 2015; Hernández-Álvarez *et al.*, 2020).

El tamaño efectivo poblacional obtenido en el presente trabajo resulto muy bajo considerando una población panmíctica ($N_e = 103.5$ y 47.6 , para NL y OL respectivamente, intervalos de confianza en Tabla 11A), y los dos clústeres genéticos (Grupo Norte $N_e = 53.1$ y 121.1 ; Grupo Sur $N_e = 37.8$ y 55.5 , Tabla 11B). Esto contrasta con las estimaciones previas basadas en microsatélites, donde se reporta un tamaño de la población de 41,000 hembras, alcanzando un máximo de 241 millones de individuos en la zona norte de la distribución de la especie (Hernández-Álvarez, 2015). Nuestros datos también resultan muy bajos si los comparamos con datos obtenidos empleando SNPs para la platija europea (*Platichthys flesus*), donde el valor de N_e más bajo para una de las poblaciones estudiadas resulto en 712 individuos, mientras que en otras tres poblaciones el resultado fue de más de 10,000 individuos (Kucinski *et al.*, 2023).

Como ya se había mencionado, el protocolo RADcap podría estar generando un sesgo en la evaluación de la demografía histórica, de manera adicional, es importante señalar que las estimaciones realizadas en el presente estudio responden a procesos contemporáneos, ya que como se mencionó anteriormente, los SNPs son más eficaces en la evaluación contemporánea (Nunziata & Weisrock, 2018), por lo que una buena estimación deberá contemplar un análisis más detallado empleando diferentes marcadores.

10.6. Limitaciones en el uso de SNPs

A pesar de las ventajas expuestas anteriormente, es importante considerar que las variantes de RADseq, así como, las distintas plataformas de secuenciación, presentan diversos tipos de errores (Graham *et al.*, 2015). Por ejemplo, en el trabajo de laboratorio al generar las librerías genómicas, en la limpieza de datos, o en el ensamble del genoma, en donde una inadecuada cobertura puede generar una gran cantidad de datos faltantes (Mastretta-Yanes *et al.*, 2015). Asimismo, la falta de genomas de referencia para organismos no modelo, puede provocar que la exactitud en la identificación de las regiones que puedan estar sometidas a un proceso adaptativo, así como el mapeo preciso de los genes involucrados sea difícil (Milano *et al.*, 2014). Esto fue corroborado en el presente estudio, ya que no fue posible determinar que genes están involucrados en la adaptación de *L. guttatus*. Además, es importante tener claro que la selección mediada por la adaptación es un proceso en el que múltiples genes están involucrados, los cuales permiten que esta fuerza actúe sobre los fenotipos y les confiera una ventaja adaptativa (Rowan *et al.*, 2021), por lo que contar con genomas de referencia es una posible limitante en la evaluación del efecto de la selección en los resultados obtenidos.

La evaluación inicial de los datos faltantes es uno de los principales factores que determinan la certeza de los resultados generados con los métodos NGS (Mastretta-Yanes *et al.*, 2015; Pedraza Marron *et al.*, 2019). El uso de diferentes filtros para evaluar el efecto que tiene el porcentaje de datos faltantes en los resultados, es una práctica común en análisis de genómica de poblaciones (Petrazzini *et al.*, 2021). Por ejemplo, en la delimitación de las especies *Lutjanus campechanus* y *L. purpureus*, el uso de diferentes rangos de datos faltantes encontró resultados robustos en la diferenciación de las dos especies sin importar el uso de 15,000 o 42,000 loci (Pedraza-Marrón *et al.*, 2019). De igual forma, la robustez de los resultados empleando diferentes porcentajes de datos faltantes fue corroborado en la evaluación de las relaciones filogenéticas en rayas y mantas, en donde se recuperaron las mismas relaciones entre las especies usando el 14% y el 47% de datos faltantes (Hosegood *et al.*, 2020). Nuestros resultados concuerdan con lo anteriormente descrito, ya que los resultados generales de la separación de dos grupos fueron similares al usar una base en donde se eliminaron los individuos con un porcentaje de

datos faltantes del 20% (ANEXO III), y otra con individuos que tenían un porcentaje mayor al 20% de datos faltantes (Fig. 21, Tablas 8 y 9), por tanto, podemos tener la certeza de que nuestros resultados son robustos.

10.7. Implicaciones en la conservación

Lutjanus guttatus representa un importante recurso pesquero en las costas del POT (Hernández-Álvarez *et al.*, 2020). En países como Costa Rica, Colombia o México, se han realizado diversos estudios enfocados en desarrollar tecnologías para el establecimiento de programas de acuicultura para la especie (Soto-Rojas *et al.*, 2009; Instituto Nacional de Pesca, 2013; Abdo-De la Parra *et al.*, 2015; Chacón-Guzmán *et al.*, 2020). Estos trabajos tuvieron como objetivo central caracterizar el ciclo biológico de la especie para un correcto establecimiento de los protocolos de cultivo, contrario a lo que ha pasado con el uso de la información genética, la cuál ha sido muy poco empleada para el establecimiento de los programas de manejo. Aunque la información genética usada para establecer unidades de manejo aún es limitada, y lo es aún más la información obtenida a partir de datos genómicos, se ha reportado que la información generada de SNPs, tanto de loci neutrales como bajo selección, puede tener implicaciones en el establecimiento de programas de manejo, como fue establecido en la especie de ostra *Olympia oyster*, en donde el uso de loci adaptativos mostró buenos resultados en el monitoreo de la especie, esto se debió a que los loci bajo selección se relacionaron con regiones del genoma fundamentales para el desarrollo de la especie, como fue el caso de los SNPs asociados al correcto desarrollo de los gametos en las hembras (Silliman, 2019). Debido a esto, es probable que los datos genómicos obtenidos en el presente trabajo puedan ser utilizados para la correcta evaluación y establecimiento de planes de manejo de la especie.

Finalmente, la diferenciación genética que separa claramente en dos grupos a las poblaciones de *L. guttatus* con los resultados de los OL, pone de manifiesto la importancia de evaluar a las poblaciones usando diferentes marcadores. Identificar la existencia de unidades poblacionales discretas que contengan diversidad genética determinada por cualquier proceso evolutivo, sea neutral o adaptativo, justifica el emprender medidas de conservación de especies que son altamente explotadas, como lo es *L. guttatus*. La primera conclusión que surge con nuestros datos, es que

es necesario dejar de considerar a la especie como una población panmíctica, ya que los SNPs bajo selección ponen de manifiesto la importancia que la adaptación a condiciones locales tiene sobre *L. guttatus*.

Aunque la especie es catalogada actualmente por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) como de preocupación menor, es evidente que hay una falta de información que debe ser complementada con estudios genéticos poblacionales. No obstante, el patrón de panmixia persiste en *L. guttatus*, ya que resultados con loci neutrales indican un constante flujo genético, los contrastantes resultados obtenidos con los OL, indican que las características ambientales y oceanográficas en el POT tienen influencia y han resultado en un bagaje genético diferenciado que debe preservarse mediante medidas de manejo pertinentes.

Hasta la fecha no hay una adecuada evaluación del impacto que las pesquerías tienen sobre las poblaciones de *L. guttatus*, pero podríamos asumir que las poblaciones sufrirán una disminución y con ello se generaría pérdida de diversidad genética, poniendo en riesgo la variación adaptativa, debida al aumento de la captura y aprovechamientos de la especie (Hernández-Álvarez, 2015). Por tanto, consideramos necesario evaluar el efecto de las pesquerías en la firma genética de la especie, y si es posible utilizar información genómica, ya que ofrecen un resultado más preciso.

Finalmente, nuestros resultados indican que los dos grupos principales obtenidos son afectados por la selección, por lo que sería necesario considerar este proceso en los programas de manejo. Es por esto que exhortamos a realizar trabajos que abarquen una mayor cantidad de información genómica, lo cual mejorará la resolución de estructura genética promovida por otras fuerzas evolutivas, y que pueda ser analizado mediante marcadores neutrales. Asimismo, es necesario evaluar con una mayor representación a las localidades del Golfo de California, para definir con claridad cuáles son los factores oceanográficos que podrían contribuir en la diferenciación y de esta forma establecer programas de conservación más precisos.

XI. CONCLUSIONES

Por primera vez se detectó diferenciación genética en las poblaciones de la especie *L. guttatus* usando marcadores SNPs generados a través del protocolo RADcap. Lo anterior pone de manifiesto la relevancia de la selección de marcadores altamente polimórficos para la evaluación de especies con tamaños efectivos poblacionales grandes.

Dos grupos genéticos bien diferenciados fueron determinados en *Lutjanus guttatus* basados en loci bajo selección (OL), esto indica que la selección está jugando un papel importante en generar diferenciación genética en la especie.

Se encontró una correlación entre la diferenciación genética obtenida con los OL y las condiciones oceanográficas. Debido a esto consideramos que el ambiente heterogéneo en el POT y particularmente el del Golfo de Panamá está influyendo en la adaptación a las condiciones locales en la especie *L. guttatus*.

Los loci neutrales (NL) no definieron una diferenciación genética en *L. guttatus* en el área de estudio, Esto indica que la migración está permitiendo la homogenización de los NL utilizados Así mismo los loci neutrales no resultaron útiles en la evaluación de la demografía histórica de la especie.

Los resultados contrastantes entre los NL y los OL son consistente con el modelo de migración-selección, lo cual aporta evidencia relevante para comprender cómo las condiciones oceanográficas afectan a las poblaciones marinas en presencia de un constante flujo genético.

El resultado de la evaluación de la migración efectiva en el espacio geográfico identificó un corredor para la migración, que coincide con la Corriente Costera de Costa Rica.

Consideramos que la información del presente trabajo permitirá establecer programas de manejo más adecuados para el manejo pesquero de la especie, lo cual será un paso importante hacia la conservación de *L. guttatus*.

XII. LITERATURA CITADA

- Abdo-de la Parra, M.I., Rodríguez-Ibarra, L.E., Rodríguez-Montes de Oca, G., Velasco-Blanco, G., e Ibarra-Casto, L. (2015). Estado actual del cultivo de larvas del pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*). *Latin american journal of aquatic research*, 43(3), 415-423. <https://dx.doi.org/10.3856/vol43-issue3-fulltext-3>.
- Aguirre-Sarabia, I. *et al.* (2021). Evidence of stock connectivity, hybridization, and misidentification in white anglerfish supports the need of a genetics-informed fisheries management framework. *Evolutionary Applications*, 14 (9), 2221-2230. <https://doi.org/10.1111/eva.13278>.
- Alexander, D.H. & Lange, K. (2011). Enhancements to the ADMIXTURE algorithm for individual ancestry estimation. *BMC Bioinformatics*, 12, 246. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-246>.
- Allen, G.R. (1985). Snappers of the World. An annotated and illustrated catalogue of Lutjanidae species known to date. *FAO Fisheries synopsis*, 125(6), 208 p.
- Allen, G. R. (1995). Lutjanidae. En Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K.E. & Niem, V.H. (eds). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental. III, 1231-1244 p.
- Allen, G. R. & Robertson, D.R. (1998). Peces del Pacífico Oriental Tropical. CONABIO, Agrupación Sierra Madre y CEMEX. México, 327 p.
- Almany, G.R., Connolly, S.R., Heath, D.D., Hogan, J.D., Jones, G.P., McCook, L.J., Mills, M., Pressey R.L. & Williamson, D.H. (2009). Connectivity, biodiversity conservation and the design of marine reserve network for coral reefs. *Coral Reefs*, 28,339-351. <https://doi.org/10.1007/s0038-009-0484-x>.
- Álvarez-Noriega, M., Burgess, S.C., Byers, J.E., Pringle, J.M., Wares, J.P. & Marshall, D.J. (2020). Global biogeography of marine dispersal potential. *Nature Ecology & Evolution*, 4(9), 1196-1203. [doi:10.1038/s41559-020-1238-y](https://doi.org/10.1038/s41559-020-1238-y).
- Amezcuca, F., Soto-Avila, C. & Green-Ruiz, Y. (2006). Age, growth, and mortality of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* from the southeastern Gulf of California. *Fisheries Research*, 77, 293-300.
- Amezcuca-Linares, F. (2008). Peces demersales del Pacífico de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 281 p.
- Anderson, W.D., & Allen, G.R. (2001). Lutjanidae. En: Carpenter, K.E., Niem, V.H. (eds.), FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific. Vol. 5. Bony Fishes, Part 3 (Menidae to Pomacentridae). FAO, Rome, pp. 2840–2918.
- Andrade, H. (2003). Age determination in the snapper *Lutjanus guttatus* (Pisces, Lutjanidae) and investigation of fishery management strategies in the Pacific Coast of Guatemala. Tesis de Maestría, Universidad de Tromsø. Noruega.
- Andrews, K.R. & Luikart, G. (2014). Recent novel approaches for population genomics data analysis. *Molecular Ecology*, 23, 1661-7. <https://doi.org/10.1111/mec.12686>.
- Andrews, K.R., Good, J.M., Miller, M.R., Luikart G. & Hohenlohe, P. A. (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17, 81-92. [doi: 10.1038/nrg.2015.28](https://doi.org/10.1038/nrg.2015.28).
- Arellano-Martínez, M., Rojas, A., García, F., Ceballos, B. & Villalejo, M. (2001). Ciclo reproductivo del Pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en las costas de Guerrero, México. *Revista de biología marina y oceanografía*, 36, 1-8. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572001000100001>.

- Assis, J., Tyberghein, L., Bosh, S., Verbruggen, H., Serrão, E.A. & De Clerck, O. (2017). Bio-ORACLE v2.0: Extending marine data layers for bioclimatic modelling. *Global Ecology and Biogeography*, 27(3), 277-284.
- Avise, J.C. (2000). *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press. <https://doi.org/10.2307/j.ctv1nzfj7>.
- Baird N.A., Etter, P.D., Atwood, T.S., Currey, M.C., Shiver, A.L. *et al.* (2008). Rapid SNP Discovery and Genetic Mapping Using Sequenced RAD Markers. *PLoS ONE*, 3(10), e3376. doi:10.1371/journal.pone.0003376.
- Bayona-Vásquez, N.J., Glenn, T.C., Kieran, T.J., Pierson, T.W., Hoffberg, S.L., Scott, P.A., Bentley, K.E., Finger, J.W., Louha, S., Troendle, N., Díaz-Jaimes, P., Mauricio, R. & Faircloth, B.C. (2019). Adaptrema III: Quadruple-indexed, double/triple-Enzyme RADseq libraries (2RAD/3RAD). *PeerJ*, 7:e7724. doi: 10.7717/peerj.7724.
- Benestan, L.M., Rougemont, Q., Senay, C., Normandeau, E., Parent, E., Rideout, R., Bernatchez, L., Lambert, Y., Audet, C. & Parent, G.J. (2021). Population genomics and history of speciation reveal fishery management gaps in two related redfish species (*Sebastes mentella* and *Sebastes fasciatus*). *Evolutionary Applications*, 14, 588-606. <https://doi.org/10.1111/eva.13143>.
- Benjamini, Y. & Yekutieli, D. (2001). The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. *Annals of statistics*, 29(4), 1165-1188. doi: 10.1214/aos/1013699998.
- Bernardi, G., Ramon, M., Alva-Campbell, Y., McCosker, J., Bucciarelli, G., Garske, L., Victor, B. & Crane, N. (2014). Darwin's fishes: phylogeography of Galápagos Islands reef fishes. *Bulletin of Marine Science*, 90, 533-549. <https://doi.org/10.5343/bms.2013.1036>.
- Bernardi, G., Nelson, P., Paddock M., Rulmal Je, J. & Crane N. (2018). Genomic islands of divergence in the Yellow Tang and the Brushtail Tang Surgeonfishes. *Ecology and Evolution*, 8, 8676-8685. Doi:10.1002/ece3.4417.
- Bernardi, G. (2022). Inter-island local adaptation in the Galápagos Archipelago: genomics of the Galápagos blue-banded goby, *Lythrypnus gilberti*. *Coral Reefs*, 41, 625-633. <https://doi.org/10.1007/s00338-021-02189-5>.
- Boratyn, G.M., Camacho, C., Cooper, P.S., Coulouris, G., Fong, A., Ma, N., Madden, T.L., Matten, W.T., McGinnis, S.D., Mrezhuk, Y., Raytselis, Y., Sayers, E.W., Tao, T., Ye, J. & Zaretskaya, I. (2013). BLAST: a more efficient report with usability improvements. *Nucleic Acids Research*, 41, 29-33. doi: 10.1093/nar/gkt282.
- Briggs, J.C. (1974). *Marine zoogeography*. McGraw Hill, New York, NY.
- Buainain, N., Maximiano, M.F., Ferreira, M., Aleixo, A., Faircloth, B.C., Brumfield, R.T., Cracraft, J. & Ribas, C.C. (2021). Multiple species and deep genomic divergences despite little phenotypic differentiation in an ancient neotropical songbird, *Tunchiornis ochraceiceps* (Sclater, 1860) (Aves: Vireonidae). *Molecular Phylogenetics and Evolutions*, 162, 107206. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107206>.
- Carreras, C., Ordóñez, V., Zane, L. *et al.* (2017). Population genomics of an endemic Mediterranean fish: differentiation by fine scale dispersal and adaptation. *Scientific Reports*, 7, 43417: <https://doi.org/10.1038/srep43417>.
- Carreras, C., García-Cisneros, A., Wangensteen, O.S., Ordóñez, V., Palacín, C., Pascual, M. & Turon, X. (2020). East is East and West is West: Population genomics and hierarchical analyses reveal genetic structure and adaptation footprints in the keystone species *Paracentrotus lividus* (Echinoidea). *Diversity & Distributions*, 26, 382-398. <https://doi.org/10.1111/ddi.13016>.

- Castric, V., Bernatchez, L., Belkhir, K. & Bonhomme, F. (2002). Heterozygote deficiencies in small lacustrine populations of brook charr *Salvelinus fontinalis* Mitchell (Pisces, Salmonidae): a test of alternative hypothesis. *Heredity*, 89, 27–35. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800089>.
- Castro-Aguirre, J.L., Espinosa-Pérez, H.S. & Schmitter-Soto, J.J. (1999). Ictiofauna estuarino-lagunar y vicaria de México. Serie Biotecnologías. Instituto Politécnico Nacional y Ed. Noriega-Limusa. México. 711 p.
- Catchen, J.M., Amores, A., Hohenlohe, P., Cresko, W. & Postlethwait, J.H. (2011). Stacks: Building and Genotyping Loci *De Novo* from Short-Read Sequences. *G3 Genes Genomes Genetics*, 1(3), 171–182. <https://doi.org/10.1534/g3.111.000240>.
- Catchen, J.M., Hohenlohe, P., Bassham, S., Amores, A. & Cresko, W. (2013). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology*, 22(11), 3124-3140. DOI: 10.1111/mec.12354.
- Chabot, C.L., Espinoza, M., Mascareñas-Osorio, I. & Rocha-Olivares, A. (2015). The effect of biogeographic and phylogeographic barriers on gene flow in the brown smoothhound shark, *Mustelus henlei*, in the northeastern pacific. *Ecology and Evolution*, 5(8), 1585-1600. <https://doi.org/10.1002/ece3.1458>.
- Chacón-Guzmán, J., Carvajal-Oses, M., Toledo-Agüero, P. & Flores-Gatica, H. (2020). Comparison of fatty acids profile of the gonads and eggs of *Lutjanus guttatus* (Perciformes: Lutjanidae) obtained from wild and captive broodstock. *Uniciencia*, 34(1), 32-59. <https://doi.org/10.15359/ru.34-1.3>.
- Chelton, D.B., Freilich, M.H., & Esbensen, S.K. (2000). Satellite observations of the wind jets off the Pacific coast of Central America. Part II: Regional relationships and dynamical considerations. *Monthly Weather Review*. 128(7), 1993-2018. [https://doi.org/10.1175/1520-0493\(2000\)128<1993:SOOTWJ>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0493(2000)128<1993:SOOTWJ>2.0.CO;2).
- Clarke, M.E., Domeier, M.L. & Laroche, W.A. (1997). Development of larvae and juveniles of the mutton snapper (*Lutjanus analis*), lane snapper (*Lutjanus synagris*) and yellowtail snapper (*Lutjanus chrysurus*) *Bulletin of Marine Science*, 61(3), 511-537.
- Claro, R. & Lindeman, K.C. (2008). Biología y manejo de los pargos (Lutjanidae) en el Atlántico occidental. Instituto de Oceanografía, CITMA, La Habana, Cuba.
- Combosh, D.J. & Vollmer, S.V. (2011). Population Genetics of an Ecosystem-Defining Reef Coral *Pocillopora damicornis* in the Tropical Eastern Pacific. *PLoS ONE*, 6(8), e21200. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021200>.
- Cornuet, J.M., Santos, F., Beaumont, M.A., Robert, C.P., Marin, J.M., Balding, D.J., Guillemaud, T. & Estoup, A. (2008). Inferring population history with DIY ABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation. *Bioinformatics*, 24(23), 2713–2719. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn514>.
- Cornuet, J.M., Pudlo, P., Veyssier, J., Dehne-Garcia, A., Gautier, M., Leblois, R., Marin, J.M. & Estoup, A. (2014). DIYABC v2.0: a software to make approximate Bayesian computation inferences about population history using single nucleotide polymorphism, DNA sequence and microsatellite data. *Bioinformatics*, 30(8), 1187-1189. doi: 10.1093/bioinformatics/btt763.
- Cowen, R.K., Lwiza, K.M.M., Sponaugle, S., Paris, B.C. & Olson, D.B. (2000). Connectivity of marine population: open or closed? *Science*, 287, 857-859. <https://doi.org/10.1126/science.287.5454.857>.
- Cowen, R.K. & Sponaugle, S. (2009). Larval dispersal and marine population connectivity. *Annual Reviews of Marine Science*, 1, 443-466. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163757>.
- Crawford D.L. & Oleksiak. M.F. (2016). Ecological population genomics in the marine environment. *Briefings in Functional Genomics*, 15(5), 342-51. Doi: 10.1093/bfpg/elw008.

- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C.A., Banks, E., DePristo, M.A., Handsaker, R.E., Lunter, G., Marth, G.T., Sherry, S.T., McVean, G., Durbin, R. & 1000 Genomes Project Analysis Group. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15), 2156-8. doi: 10.1093/bioinformatics/btr330.
- D'Ambrosio, J., Phocas, F., Haffray, P., Bestin, A., Brard-Fudulea, S., Poncet, C., Quillet, E., Dechamp, N., Fraslin, C., Charles, M. & Dupont-Nivet, M. (2019). Genome-Wide estimates of genetic diversity, inbreeding and effective size of experimental and commercial rainbow trout lines undergoing selective breeding. *Genetics Selection Evolution*, 51, 26. <https://doi.org/10.1186/s12711-019-0468-4>.
- Davey, J.W. & Blaxter, M. L. (2010). RADSeq: next-generation population genetics. *Briefings in Functional Genomics*, 5(5-6), 416-23. Doi:10.1093/bfgp/elq031.
- D'Croz, L. & O'Dea, A. (2007). Variability in upwelling along the Pacific shelf of Panamá and implications for the distribution of nutrients and chlorophyll. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 73 (1-2):325–340. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.01.013>.
- Díaz-Arce, N., Arrizabalaga, H., Murua, H., Irigoien, X. & Rodríguez-Ezpeleta, N. (2016). RAD-seq derived genome-wide nuclear markers resolve the phylogeny of tunas. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 102, 202-207. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.06.002>.
- Díaz-Jaimes, P., Uribe-Alcocer M., Rocha-Olivares A., García de León F.J., Nortmoon P. & Durand J.D. (2010). Global phylogeography of the dolphinfish (*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. DOI: 10.1016/j.ympev.2010.10.005.
- Díaz-Viloria, N., Max-Aguilar, A., Rivera-Lucero, M. I., Espino-Barr, E., Reguera-Rouzaud, N., Casaucao-Aguilar, A. & Perez-Enriquez, R. (2023). Genetic connectivity in the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Lutjaniformes:Lutjanidae) between Mexico and Panama throughout the Tropical Eastern Pacific. *Neotropical Ichthyology*, 21(2), 1-18. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2022-011>.
- Do, C., Waples, R.S., Peel, D., Macbeth, G.M., Tillett, B.J. & Ovenden, J.R. (2014). NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (*N_e*) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*, 14, 209-214. DOI: 10.1111/1755-0998.12157.
- Dupanloup I., Schneider, S. & Excoffier, L. (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11(12), 2571-2581. doi: 10.1046/j.1365-294x.2002.01650.x.
- Eguiarte, L.E., Souza, V. & Aguirre, X. (2007). *Ecología Molecular*. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 592 pp.
- Eguiarte, L.E., Aguirre-Liguori J.A., Jardón-Barbolla L., Aguirre-Planter E. & Souza V. (2013). Genómica de poblaciones: nada en Evolución va a tener sentido si no es a la luz de la genómica, y nada en genómica tendrá sentido si no es a la luz de la evolución. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(1), 42-56.
- Eldon, B., Riquet, F., Yearsley, J., Jollivet D. & Broquet, T. (2016). Current hypotheses to explain genetic chaos under the sea. *Current Zoology*, 62, 551-566. <https://doi.org/10.1093/cz/zow094>.
- Escatel-Luna, E., Adams, D.H., Uribe-Alcocer, M., Isla-Villanueva, V. & Díaz-Jaimes, P. (2015). Population Genetic Structure of the Bonnethead Shark, *Sphyrna tiburo*, from the Western North Atlantic Ocean Based on mtDNA Sequences. *Journal of Heredity*, 106(4), 355-365. doi: 10.1093/jhered/esv030.
- Excoffier, L. & Lischer, H.E.L. (2010). Arlequin suite version 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.

- Faircloth B.C., McCormack, J.E., Crawford, N.G. *et al.* (2012). Ultraconserved elements anchor thousands of genetics markers spanning multiple evolutionary timescales. *Systematic Biology*, 61:717-726. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys004>.
- Fiedler, P.C. & Lavín, M.F. (2017). Oceanographic Conditions of the Eastern Tropical Pacific. In: Glynn, P., Manzello, D., Enochs, I. (eds) *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific*. Coral Reefs of the World, vol 8. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_3.
- Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K.E., & Niem, V.H. (1995). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental. Vol. II Vertebrados-Parte 1. Roma FAO. 647-1200.
- Foll, M. & Gaggiotti, O. (2008). A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics*, 180(2), 977-93. doi: 10.1534/genetics.108.092221.
- Forsberg, E.D. (1969). On the climatology, oceanography and fisheries of the Panama Bight. *Inter-American Tropical Tuna Commission Bulletin*, 14, 49-385.
- Futuyma, D. (1986). *Evolutionary biology*. 2a ed. Sinauer Associates Inc. Sunderland. Massachusetts.
- Galià-Camps, C., Carreras, C., Turon, X. & Pascual, M. (2022). The impact of adaptor selection on genotyping in 2b-RAD studies. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1079839. Doi: 10.3389/fmars.2022.1079839.
- García de León, F.J, Galván-Tirado, C., Sánchez Velasco, L., Silva-Segundo, C.A., Hernández-Guzmán, R., Barriga-Sosa, I. de los A., Díaz-Jaimes, P., Canino, M. & Cruz-Hernández, P. (2018). Role of oceanography in shaping the genetic structure in the North Pacific hake *Merluccius productus*. *PLoS ONE*, 13(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194646>.
- García-Ortega, A. (2009). Nutrition and feeding research in the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) and bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*), new species for marine aquaculture. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35, 69-80.
- Gautier, M., Gharbi, K., Cezard, T., Foucaud, J., Kerdelhué, C., Pudlo, P., Cornuet, J.M. & Estoup, A. (2013). The effect of RAD allele dropout on the estimation of genetic variation within and between populations. *Molecular Ecology*, 22(11), 3165-78. doi: 10.1111/mec.12089.
- Gilbert, P.S., Chang, J., Pan, C., Sobel, E.M., Sinsheimer, J.S., Faircloth, B.C. & Alfaro, M.E. (2015). Genome-wide ultraconserved elements exhibit higher phylogenetic informativeness than traditional gene markers in percomorph fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolutions*, 92, 140-146. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.05.027>.
- Glenn, T.C. (2011). Field guide to next-generation DNA sequencers. *Molecular Ecology*, 11, 759-769. doi: 10.1111/j.1755-0998.2011.03024.x.
- Glenn, T.C., Nilsen, R.A. Kieran, T.J. Sanders, J.C., Bayona-Vásquez, N.J., Finger, J.W., Pierson, T.W., Bentley, K.E., Hoffberg, S.L., Louha, S., *et al.* (2019). Adaptrema I: universal stubs and primers for 384 unique dual-indexed or 147, 456 combinatorially-indexed Illumina libraries (iTru & iNext). *PeerJ*, 7:e7755. <https://doi.org/10.7717/peerj.7755>.
- Glynn, P.W. & Ault, S.J. (2000). A biogeographic analysis and review of the Eastern Pacific coral reef región. *Coral Reefs*, 19, 1-23.
- Gnrirke A., Melnikov, A. & Maguire, J. (2009). Solution hybrid selection with ultra-long oligonucleotides for massively parallel targeted sequencing. *Nature Biotechnology*, 27, 182-189.
- Gomes, G. Sampaio, I. & Schneider, H. (2012). Population structure of *Lutjanus purpureus* (Lutjanidae-Perciformes) on the Brazilian coast: Further existence evidence of a single species of red snapper

- in the western Atlantic. *Anais Academia Brasileira de Ciências*, 84(4), 979–999. doi:10.1590/S0001-37652012000400013.
- Gonzalez, L.M. & D’Croz, L. (2007). Variabilidad espacial del afloramiento en el Golfo de Panamá. *Revista Tecnociencias*, 9(2), 107-119.
- Goudet, J. & Jombart, T. (2015). Hierfstat: Estimation and Tests of Hierarchical F-Statistics. R Packag. Version 0. 04-22.
- Graham, C.F., Glenn, T.C., Mc Arthur, A.G. *et al.* (2015). Impacts of degraded DNA on restriction enzyme associated DNA sequencing (RADseq). *Molecular Ecology Resources*, 15, 1304-1315.
- Graham, A.M., Lavretsky, P., Muñoz-Fuentes, V., Green, A.J., Wilson, R.E. & McCracken, K.G. (2018). Migration-Selection Balance Drives Genetic Differentiation in Genes Associated with High-Altitude Function in the Speckled Teal (*Anas flavirostris*) in the Andes. *Genome Biology and Evolution*, 10(1), 14-32. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx253>.
- Green, A.L., Maypa, A.P., Almany, G.R., Rhodes, K.L., Weeks, R., Abesamis, R.A., Gleason, M.G., Mumby, P.J. & White, A.T. (2015). Larval dispersal and movement patterns of coral reef fishes an implications for marine reserve network design. *Biological Reviews Cambridge Philosophical Society*, 90, 1215-1247. <https://doi.org/10.1111/brv.12155>.
- Grewe, P., Feutry, P., Hill, P. *et al.* (2015). Evidence of discrete yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) populations demands rethink of management for this globally important resource. *Scientific Reports*, 5, 16916. <https://doi.org/10.1038/srep16916>.
- Hardy, M.E., Grady, J.M. & Routman, E.J. (2002). Intraspecific phylogeography of slender madtom: the complex evolutionary history of Central Highlans of United States. *Molecular Ecology*, 11, 2393-2403.
- Hasting, P.A. (2000). Biogeography of the tropical eastern Pacific: Distribution and Phylogeny of chaenopsid fishes. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 128, 319-335.
- Hedgecock, D., Barber, P.H. & Edmands, S. (2007). Genetic approaches to measuring connectivity. *Oceanography*, 20, 70-79.
- Hedgecock, D. & Pudovkin, A.I. (2011). Sweepstakes reproductive success in highly fecund marine fish and shellfish: a review and commentary. *Bulletin of Marine Science*, 87, 971-1002. <https://doi.org/10.5343/bms.2010.1051>.
- Hemmer-Hansen, J., Therkildsen, N.O. & Pujolar, J.M. (2014). Population genomics of marine fishes: next-generation prospects and challenges. *The Biological Bulletin*, 227(2), 10.1086/BBLv227n2p117.
- Hernández-Álvarez, C.A. (2015). Filogeografía y demografía histórica de *Lutjanus guttatus* en el Pacífico Oriental Tropical, por medio de la región control del ADN mitocondrial. Tesis de Licenciatura. UNAM.
- Hernández-Álvarez, C.A., Bayona-Vásquez N.J., Domínguez-Domínguez O., Uribe-Alcocer M. & Díaz-Jaimes P. (2020). Phylogeography of the Pacific Red Snapper (*Lutjanus peru*) and Spotted Rose Snapper (*Lutjanus guttatus*) in the Inshore Tropical Eastern Pacific. *Copeia*, 108(1), 61-71. <https://doi.org/10.1643/CG-18-157>.
- Hewitt, G.M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 58(3), 247-276. <https://doi.org/10.1006/bijl.1996.0035>.
- Hijmans, R. (2023). raster: Geographic Data Analysis and Modeling. R package version 3.6-21. <https://rspatial.org/raster>.

- Hillis, D., Moritz, C. & Mable, B. K. (1996). *Molecular Systematic* 2da ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 651 p.
- Hoffberg, S., Kieran, T., Catchen, J., Devault, A., Faircloth, B., Mauricio, R. & Glenn., T. (2016). RADcap: sequence Capture of Dual-digest RADseq Libraries with identifiable Duplicates and Reduced Missing Data. *Molecular Ecology Resources*, 16(5), 1264-1278. 10.1111/1755-0998.12566.
- Hosegood, J., Humble, E., Ogden, R., De Bruyn, M., Creer, S., Stevens, G.M., *et al.* (2020). Phylogenomics and species delimitation for effective conservation of manta and devil rays. *Molecular Ecology*, 29, 4783–4796. doi: 10.1111/mec.15683.
- INAPESCA. (2013). Carta Nacional Acuícola. Instituto Nacional de Pesca.
- Johnson, G.D. (1980). The Limits and Relationships of the Lutjanidae and Associated Families. *Bulletin of the Scripps Institution of Oceanography*. University of California. San Diego. Vol. 24. 114 pp.
- Johnson, M.S. & Black, R. (1982). Chaotic genetic patchiness in an intertidal limpet. *Siphonaria sp. Marine Biology*, 70, 157-164.
- Jombart, T. & Ahmed, I. (2011). *adegenet* 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21), 3070-3071. doi: 10.1093/bioinformatics/btr521.
- Kamvar, Z.N., Tabima, J.F. & Grünwald, N.J. (2014). *Poppr*: An R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ*, 2, e281. DOI 10.7717/peerj.281.
- Kessler, W. (2006). The circulation of the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography*, 69(2-4), 181-217.
- Kimura, M. (1968). Evolutionary Rate at the Molecular Level. *Nature*, 217, 624-626. <https://doi.org/10.1038/217624a0>.
- Ku, C., Loy, E.Y., Pawitan, Y., & Chia, K.S. (2010). The pursuit of genome-wide association studies: where are we now? *Journal of Human Genetics*, 55, 195-206. <https://doi.org/10.1038/jhg.2010.19>.
- Kuciński, M. Jakubowska-Lehrmann, M., Góra, A., Mirny, Z., Nadolna-Altyn, K., Szlinder-Richert, J. & Ocalewicz, K. (2023). Population Genetic Study on the European Flounder (*Platichthys flesus*) from the Southern Baltic Sea Using SNPs and Microsatellite Markers. *Animals*, 13(9), 1448. <https://doi.org/10.3390/ani13091448>.
- Lanteri, A. & Confalonieri, V. (2003). Filogeografía: Objetivos, métodos y ejemplos. P. 185-195. En Morrone, J. y J. Llorente (Eds). Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía. CONABIO, México D.F.
- Lavín, M.F., Beier, E., Gómez-Valdés, J., Godínez, V.M., & García, J. (2006). On the summer poleward coastal current off SW México. *Geophysical Research Letters*, 33(2), 2–5. doi:10.1029/2005GL024686.
- Lenormand, T. (2002). Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 183-189.
- Lessios, H.A. & Baums, I.B. (2017). Gene flow in coral reef organisms of the Tropical Eastern Pacific. In: Glynn, P.W., Manzello, D. & Enochs, I.C. (eds) Coral reefs of the eastern Tropical Pacific: Persistence and loss in a dynamic environmental. Springer, Dordrecht. Pp 477-499.
- Li, H. & Durbin, R. (2009) Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler Transform. *Bioinformatics*. 25:1754-60. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp324.

- Limborg, M.T., Helyar, S.J., De Bruyn, M., Taylor, M.I., Nielsen, E.E., Ogden, R. Carvalho G.R.; FPT Consortium; & Bekkevold D. (2012). Environmental selection on transcriptome-derived SNPs in a high gene flow marine fish, the Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Molecular Ecology*, 21(15), 3686-3703. Doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05639.x.
- Loera-Padilla, F.J., Piñeros V.J., Baldwin C.C., Cox C.E., Simoes N., Ribeiro E., Lasso-Alcalá O. & Domínguez-Domínguez O. (2021). Phylogeography, population connectivity and demographic history of the Stoplight parrotfish, *Sparisoma viride* (Teleostei: Labridae), in the Greater Caribbean. *Coral Reefs*, 41, 753-765. <https://doi.org/10.1007/s00338-020-02036-z>.
- López-García, V.J. (2012). Estudio de la variabilidad genética de dos especies de pargo *Lutjanus guttatus* y *Lutjanus argentiventris*, del pacífico colombiano, mediante técnicas moleculares. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. 107 p.
- Luca, F., Hudson, R.R., Witsenky, D.B. & Di Rienzo, A. (2011). A reduced representation approach to population genetic analyses and applications to human evolution. *Genome Research*, 21, 1087-1098. Doi: 10.1101/gr.119792.110.
- Luiz, O.J., Allen, A.P., Robertson, D.R., Floeter, S.R., Kulbicki, M., Vigliola, L., Becheler, R. & Madin, J.S. (2013). Adult and larval traits as determinants of geographic range size among tropical reef fishes. *PNAS*, USA. 110, 16498-16502. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304074110>.
- Mamoozadeh, N.R., Graves, J.E. & McDowell, J.R. (2020). Genome-wide SNPs resolve spatiotemporal patterns of connectivity within striped marlin (*Kajikia audax*), a broadly distributed and highly migratory pelagic species. *Evolutionary Applications*, 13(4), 677-698. <https://doi.org/10.1111/eva.12892>.
- Maravilla, E. (2001). Determinación de la época reproductiva, hábitos alimentarios, edad y crecimiento de *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) (Pisces: Lutjanidae) utilizando incrementos diarios en sus otolitos sagitales. Tesis de Licenciatura, Universidad de El Salvador. El Salvador. 89 p.
- Mardis, E.R. (2008). Next-generation DNA sequencing methods. *Annual Review Genomics and Human Genetics*, 9, 387-402.
- Mariani, S. & Bekkevold D. (2014). The nuclear genome: Neutral and adaptive markers in fisheries science. In S.X. Cadrin, L.A. Derr, y S. Mariani (Eds). *Stock identification Methods: Applications in Fishery Science* (2. ed., pp. 297-328). Academic Press.
- Maroso, F., Gkagkavouzis, K., De Innocentiis, S., Hillen, J., do Prado, F., Karaiskou, N. et al. (2021) Genome-wide analysis clarifies the population genetic structure of wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *PLoS ONE*, 16(1), e0236230. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236230>.
- Mastretta-Yanes, A., Moreno-Letelier, A., Piñero, D., Jorgensen, T.H. & Emerson, B.C. (2015). Biodiversity in the Mexican highlands and the interaction of geology, geography and climate within the Trans-Mexican Volcanic Belt. *Journal of Biogeography*, 42, 1586-1600. <https://doi.org/10.1111/jbi.12546>.
- Mayr, E. (2001). *What evolution is?* Basic Books. New York.
- McRae, B.H. (2006). Isolation by resistance. *Evolution*, 60(8), 1551-61.
- McRae, B.H. & Beier, P. (2007). Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. *PNAS USA*, 104(50), 19885-90. doi: 10.1073/pnas.0706568104.
- Mendoza-Portillo V., Galván-Tirado C., Portnoy D.S., Valenzuela-Quiñonez F., Domínguez-Domínguez O., Durand J.D., Pérez-Urbíola J.C., y García-De León F.J. (2020). Genetic diversity and structure of circumtropical almaco jack, *Seriola rivoliana*: tool for conservation and management. *Journal of Fish Biology*, 97, 882–894. Doi 10.1111/jfb.14450.

- Mendoza-Portillo, V., García-De León, F.J. & von der Heyden, S. (2023). Responses of population structure and genomic diversity to climate change and fishing pressure in a pelagic fish. *Global Change Biology*, 29, 4107-4125. <https://doi.org/10.1111/gcb.16732>.
- Milano, I., Babbucci, M., Cariani, A., Atanassova, M., Bekkevold, D., Carvalho, G.R., Espiñeira, M., Fiorentino, F., Garofalo, G., Geffen, A.J., Hansen, J.H., Helyar, S.J., Nielsen, E.E., Ogden, R., Patarnello, T., Stagioni, M., FishPopTrace Consortium, Tinti, F. & Bargelloni, L. (2014). Outlier SNP markers reveal fine-scale genetic structuring across European hake populations (*Merluccius merluccius*). *Molecular Ecology*, 23, 118-135. Doi: 10.1111/mec.12568.
- Miller, M.R., Dunham, J.P., Amores, A., Cresko W.A. & Johnson, E.A. (2007). Rapid and cost-effective polymorphism identification and genotyping using restriction site associated DNA (RAD) markers. *Genome Research*, 17, 240-248.
- Miya, M., Takeshima, H., Endo, H., Ishiguro, N.B., Inoue, J.G., Mukai, T., Satoh, T.P., Yamaguchi, M., Kawaguchi, A., Mabuchi, K., Shirai, S.M. & Nishida, M. (2003). Major patterns of higher teleostean phylogenies: a new perspective based on 100 complete mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 26(1), 121-138. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00332-9](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00332-9).
- Moncrieff, A.E., Faircloth, B.C. & Brumfield R.T. (2022). Systematics of *Lepidothrix* manakins (Aves: Passeriformes: Pipridae) using RADcap markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 173, 107525. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107525>.
- Monreal Gómez, M.A., Salas de León, D.A. & Aldeco Ramírez, J. (1999). Las surgencias costeras de América. *Geofísica*, 51, 7-43.
- Morales-Pulido, J.M., Munguia-Vega, A., Jiménez-Rosenberg, S.P.A., Rocha-Olivares, A. & Galindo-Sánchez, C.E. (2023). Genetic connectivity in Twospot flounder (*Bothus robinsi*) across the Gulf of Mexico, inferred with single nucleotide polymorphisms from larvae and adults. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1070483. Doi: 103389/fmars.2023.1070483.
- Munguia-Vega A., Marinone, S.G., Paz-García, D.A., Giron-Nava, A., Plomozo-Lugo, T., Gonzalez-Cuellar, O., Hudson-Weaver, A., García-Rodríguez F.J. & Reyes-Bonilla, H. (2018). Anisotropic larval connectivity and metapopulation structure driven by directional oceanic current in a marine fish targeted by small-scale fisheries. *Marine Biology*, 165, 16. <https://doi.org/10.1007/s00227-017-3267-x>.
- Muss, A.R., Stepien, C.A., Wirtz, P. & Bowen, B.W. (2001). Phylogeography of *Ophioblennius*: the role of ocean currents and geography in reef fish evolution. *Evolution*, 55(3), 561-572.
- Narum, S.R. (2006). Beyond Bonferroni: Less conservative analyses for conservation genetics. *Conservation Genetics*, 7, 783–787. <https://doi.org/10.1007/s10592-005-9056-y>.
- Nei, M. (1987). Molecular evolutionary genetics. Columbia University press. New York.
- Nielsen, E., Hemmer-Hansen, J., Larsen, P.F. & Bekkevold, D. (2009). Population genomics of the marine fishes: identifying adaptive variation in space and time. *Molecular Ecology*, 18, 3128-50.
- NOAA. (2021). Annual 2021 Global Climate Report.
- Nunziata, S.O. & Weisrock, D.W. (2018). Estimation of contemporary effective population size and population declines using RAD sequence data. *Heredity*, 120(3),196-207. doi: 10.1038/s41437-017-0037-y.
- Ochoa-Zavala, M., Díaz-Jaimes P., Ortega-García S. & Galván-Magaña F. (2022). Genetic divergence at species boundaries of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) in the Tropical Eastern Pacific. *PeerJ*, 10, e14389. <https://doi.org/10.7717/peerj.14389>.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., et al. (2019). Vegan: community ecology package (version 2.5-6), in The comprehensive Rarchive network.

- Olivares, O. & Boza, J. (1999). Crecimiento de juveniles de pargo mancha (*Lutjanus guttatus*) utilizando alimento granulado en condiciones de laboratorio. *UNICIENCIA*, 15-16, 45-48.
- Palacios, M.M. & Zapata, F.A. (2014). Fish community structure on coral habitats with contrasting architecture in the Tropical Eastern Pacific. *Revista de Biología Tropical*, 62(1), 343-357.
- Palmerín-Serrano, P.N., Tavera J., Espinoza. E., Angulo A., Martínez-Gómez J.E., González-Acosta A.F., Domínguez-Domínguez O. (2021). Evolutionary history of the reef fish *Anisotremus interruptus* (Perciformes: Haemulidae) throughout the Tropical Eastern Pacific. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 59, 148–162. <https://doi.org/10.1111/jzs.12392>.
- Palumbi, S.R., Evans, T.G., Pespeni, M.H. & Somero, G.N. (2019). Present and future adaptation of marine species assemblages: DNA-based insights into climate change from studies of physiology, genomics, and evolution. *Oceanography*, 32(3), 82-93. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2019.314>.
- Pante, E. & Simon-Bouhet, B. (2013). marmap: A Package for Importing, Plotting and Analyzing Bathymetric and Topographic Data in R. *PLoS ONE*, 8(9), e73051. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073051>.
- Paris, J.R., Stevens, J.R. & Catchen, J.M. (2017). Lost in parameter space: a road map for STACKS. *Methods Ecology and Evolution*, 8, 1360-1373. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12775>.
- Pecoraro, C., Babbucci, M., Franch, R. *et al.* (2018). The population genomics of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) at global geographic scale challenges current stock delineation. *Scientific Report*, 8, 13890: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32331-3>.
- Pedraza-Marrón, M. del C. (2014). Historia Evolutiva del Género *Malacoctenus* (LABRISOMIDAE) en el Pacífico Oriental Tropical. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 107 p.
- Pedraza-Marrón, C.R., Silva, R., Deeds, J., van Belleghem, S.M., Mastretta-Yanes, A., Domínguez-Domínguez, O., Rivero-Vega, R.A., Lutackas, L., Murie, D., Parkyn, D., *et al.* (2019). Genomics overrules mitochondrial DNA, siding with morphology on a controversial case of species delimitation. *Proceedings of the Royal Society B Biological Science*, 286, 20182924. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2924>.
- Pérez-Quiñonez, C.I., Quiñonez-Velázquez, C. & García-Rodríguez, F.J. (2019). Genetic homogeneity of the Pacific thread herring (*Opisthonema libertate*) (Günther, 1867) in the Eastern Pacific, inferred from mtDNA sequences. *Mitochondrial DNA Part A*, 30(3), 517-524.. <https://doi.org/10.1080/24701394.2019.1570173>.
- Peterson, B.K., Weber, J.N., Kay, E.H., Fisher, H.S., & Hoekstra, H.E. (2012). Double Digest RADseq: An Inexpensive Method for *de Novo* SNP Discovery and Genotyping in Model and Non-Model Species. *PLoS ONE*, 7(5), e37135. doi:10.1371/journal.pone.0037135.
- Petkova, D., Novembre, J. & Stephens, M. (2016). Visualizing spatial population structure with estimated effective migration surfaces. *Nature Genetics*, 48, 94-100. <https://doi.org/10.1038/ng.3464>.
- Petrazzini, B.O., Naya, H., Lopez-Bello, F. *et al.* (2021). Evaluation of different approaches for missing data imputation on features associated to genomic data. *BioData Mining*, 14, 44. <https://doi.org/10.1186/s13040-021-00274-7>.
- Pierson, T.W., Fitzpatrick, B.M. & Camp, C.D. (2021). Genetic data reveal fine-scale ecological segregation between larval plethodontid salamanders in replicate contact zones. *Evolutionary Ecology*, 35, 309-322. <https://doi.org/10.1007/s10682-020-10099-1>.
- Piñeros, V.J. & Gutiérrez-Rodríguez, C. (2017). Population genetic structure and connectivity in the widespread coral-reef *Abudefduf saxatilis*: the role of historic and contemporary factors. *Coral Reefs*, 36, 877-890. <https://doi.org/10.1007/s00338-017-1579-4>.

- Piñeros, V.J., Beltrán-López, R.G., Baldwin C.C., Barraza, E., Espinoza E., Martínez, J.E. & Domínguez-Domínguez, O. (2018). Diversification of the genus *Apogon* (Lecepède, 1801) (Apogonidae: Perciformes) in the tropical eastern Pacific. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 132, 232-242. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.12.010>.
- Portnoy, D. S., Fields, A.T., Puritz, J.B., Hollenbeck, C.M., & Patterson, W.F. (2022). Genomic analysis of red snapper, *Lutjanus campechanus*, population structure in the U.S. Atlantic and Gulf of Mexico. *ICES Journal of Marine Science*, 79(1), 12-21. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsab239>.
- Pritchard, J.K, Stephens, M. & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.
- Privé, F., Luu, K., Vilhjálmsson, B.J. & Blum, M.G.B. (2020). Performing Highly Efficient Genome Scans for Local Adaptation with R Package pcadapt Version 4. *Molecular Biology and Evolution*, 37(7), 2153–2154. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa053>.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I.W., Daly, M.J. & Sham, P.C. (2007). PLINK: A tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559-575. doi: 10.1086/519795.
- Randall, C.J., Toth, L.T., Leichter, J.J., Maté, J.L. & Aronson R.B. (2020). Upwelling buffers climate change impacts on coral reefs of the eastern tropical Pacific. *Ecology*, 101, e02918. doi: 10.1002/ecy.2918.
- Reguera-Rouzaud, N., Díaz-Viloria, N., Sánchez-Velasco, L. *et al.*, (2020). Yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) connectivity in the Southern Gulf of California. *Marine Biodiversity*, 50, 54. <https://doi.org/10.1007/s12526-020-01070-y>.
- Reguera-Rouzaud, N., Díaz-Viloria N., Pérez-Enríquez R., Espino-Barr E., Rivera-Lucero M.I. & Munguía-Vega A. (2021). Drivers for genetic structure at different geographic scales for Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) and yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) in the tropical eastern Pacific. *Journal of Fish Biology*, 98, 1267–1280. <https://doi.org/10.1111/jfb.14656>.
- Reyes-Hernández, C., Ahumada-Sempoal, M.A. & Durazo, R. (2016). The Costa Rica Coastal Current, eddies and wind forcing in the Gulf of Tehuantepec, Southern Mexican Pacific. *Continental Shelf Research*, 114, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2015.12.012>.
- Ribeiro, Â.M., Lloyd, P. & Bowie, R.C.K. (2011). A tight balance between natural selection and gene flow in a southern African arid-zone endemic bird. *Evolution*, 65(12), 3499-3514. <http://www.jstor.org/stable/41317091>.
- Robertson, D.R. & Allen, G.R. (2002). Shorefishes of the tropical Eastern Pacific: an information system. CD-ROM. Smithsonian Tropical Research Institute. Balboa. Panama.
- Robertson, D.R., Grove, J.S. & McCosker, J.E. (2004). Tropical transpacific shorefishes. *Pacific Science*, 58, 507-565.
- Robertson, D.R. & Allen, G.R. (2008). Shorefishes of the tropical Eastern Pacific: an information system. CD-ROM. Smithsonian Tropical Research Institute. Balboa. (disponible en: www.stri.org/sfstep).
- Robertson, D.R. & Cramer, K.L. (2009). Shore fishes and biogeographic subdivisions of the Tropical Eastern Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, 380, 1-17. <https://doi.org/10.3354/meps07925>.
- Robertson, D.R. & Allen, G.R. (2015). (eds.) Peces Costeros del Pacífico Oriental Tropical: Sistema de información en línea. Versión 2.0 Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Balboa, Republica de Panamá.
- Rocha-Olivares, A. & Sandoval-Castillo, J.R. (2003). Mitochondrial diversity and genetic structure in allopatric populations of the pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Ciencias Marinas*, 29(2), 197-209.

- Rochette, N.C., Rivera-Colón, A.G. & Catchen, J.M. (2019). *Stacks 2: analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics*. *Molecular Ecology*, 28, 4737-4754. <https://doi.org/10.1111/mec.15253>.
- Rodríguez-Rubio, E., Schneider, W. & Abarca Del Río, R. (2003). On the seasonal circulation within the Panama Bight derived from satellite observations of wind, altimetry and sea surface temperature. *Geophysical Research Letters*, 30(7), 1410. doi:10.1029/2002GL016794.
- Rodríguez-Zárate, C.J., Sandoval-Castillo, J., van Sebille, E. Keane, R.G., Rocha-Olivares, A., Urteaga, J. & Beheregaray, L.B. (2018). Isolation by environment in the highly mobile olive ridley turtle (*Lepidochelys olivacea*) in the eastern Pacific. *Proceedings of the Royal Society B Biological Science*, 285(1878), 20180264. Doi:10.1098/rspb.2018.0264.
- Rojas, J. (1997). Hábitos alimentarios del Pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces:Lutjanidae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 44/45, 471-476.
- Rojas, J., Maravilla, E. & Chicas., F. (2004). Hábitos alimentarios del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en Los Cobanos y Puerto La Libertad, EL Salvador. *Revista de Biología Tropical*, 57, 125-131.
- Rosenblum, E.B., Hickerson, M.J. & Moritz, C. (2007). A multilocus perspective on colonization accompanied by selection and gene flow. *Evolution*, 61, 2971-2985. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00251.x>.
- Rowan, T.N., Durbin, H.J., Seabury, C.M., Schnabel, R.D. & Decker, J.E. (2021). Powerful detection of polygenic selection and evidence of environmental adaptation in US beef cattle. *PLoS Genetics*, 17(7), e1009652. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009652>.
- Saintenac, C., Jiang, D. & Akhunov, E.D. (2011). Targeted analysis of nucleotide and copy number variation by exon capture in allotetraploid wheat genome. *Genome Biology*, 12, R88.
- Sandoval-Huerta, E.R. (2014). Filogeografía de *Elacatinus puncticulatus* (Teleostei, Gobiidae) en el Pacífico Oriental Tropical. Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 83p
- Sandoval-Huerta, E.R., Beltrán-López, R.G., Pedraza-Marrón, C. R., Paz-Velásquez, M. A., Angulo, A., Robertson, D.R., Espinoza, E. & Domínugez-Domínugez, O. (2019). The evolutionary history of the goby *Elacatinus puncticulatus* in the Tropical Eastern Pacific: effects of the habitat discontinuities and local environmental variability. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 130, 269-285. Doi:10.1016/j.ympev.2018.10.020.
- Sarabia-Méndez, M., Gallardo-Cabello, M., Espino-Barr, E. & Anislado-Tolentino, V. (2010). Characteristics of population dynamics of *Lutjanus guttatus* (Pisces, Lutjanidae) in Bufadero Bay, Michoacán, México. *Hidrobiológicas*, 20, 147-157.
- Saucedo, M. (2000). Alimentación natural de juveniles de *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) y *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) (Lutjanidae:Perciformes) en la costa de Jalisco y Colima, México. Tesis de Licenciatura. Universidad de Colima. 120 p.
- Schneider, S., Roessli, D. & Excoffier, L. (2000). Arlequin version 2000. A software for population genetic data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland. [on line: <http://anthro.unige.ch/arlequin>].
- Schloerke, B., Crowley, J., Cook, D., Briatte, F., Marbach, M., Thoen, E., Elberg, A. & Larmarange, J. (2018). GGally: Extension to ggplot2. R package version 2.1.0 software.
- Selkoe, K.A., Watson, J.R., White, C., Horin, T.B., Lacchei, M., Mitarai, S., Siegel, D.A., Gaines, S.D. & Toonen, R.J. (2010). Taking the chaos out of genetic patchiness: seascape genetics reveals

- ecological and oceanographic drivers of genetic patterns in three temperate reef species. *Molecular Ecology*, 19, 3708-3726. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04658.x>.
- Silliman, K., (2019). Population structure, genetic connectivity, and adaptation in the Olympia oyster (*Ostrea lurida*) along the west coast of North America. *Evolutionary Applications*, 12(5), 923-939. <https://doi.org/10.1111/eva.12766>.
- Sinclair, M. (1998). *Marine Population: An Essay on Population Regulation and Speciation*. Univ Washington. Seattle. 252 p.
- Silva, C.N.S., Murphy, N.O., Bell, J.J., Green, B.S., Duhamel, G., Cockcroft, A.C., Hernández, C.E. & Strugnell, J.M. (2021). Global drivers of recent diversification in a marine species complex. *Molecular ecology*, 30(5), 1223-1226. <https://doi.org/10.1111/mec.15780>.
- Soto-Rojas, R. L., Mejía-Arana, F., Palacios A.A. & Hiramatsu, K. (2009). Reproducción y crecimiento del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 57(1-2), 125-131.
- Strub, P.T. & James, C. (2002). Altimeter-derived surface circulation in large-scale NE Pacific Gyres. Part 1. Seasonal variability. *Progress in Oceanography*, 53/2-4, 163-183. [https://doi.org/10.1016/S0079-6611\(02\)00029-0](https://doi.org/10.1016/S0079-6611(02)00029-0).
- Suárez, A. (1992). Estudio Preliminar sobre la biología (alimentación, reproducción y crecimiento) de *Lutjanus guttatus* en el Pacífico Colombiano. Tesis de pregrado, Universidad del Vall. Cali. Colombia.
- Suárez, A. & Rubio, F. (1993). Aspectos sobre el crecimiento y ciclo sexual de *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en la Bahía de Malaga, Pacífico de Colombia. Congreso Centroamericano y del Caribe en Cienicas del Mar. Universidad del Valle, Santiago de Cali. Cali, Colombia.
- Sunde, J., Yıldırım, Y., Tibblin, P., Bekkevold, D., Skov, C., Nordahl, O., Larsson, P. & Forsman, A. (2022). Drivers of neutral and adaptive differentiation in pike (*Esox Lucius*) populations from contrasting environments. *Molecular Ecology*, 31(4), 1093-1110. <https://doi.org/10.1111/mec.16315>.
- Templeton, A.R. (2006). *Population genetics and microevolutionary theory*. 1st edition. A John Wiley & Sons Inc Publication. USA.
- Tin, M.M., Economo, E.P. & Mikheyev, A.S. (2014). Sequencing degraded DNA from non-destructively sampled museum specimens for RAD-tagging and low coverage shotgun phylogenetics. *PLoS ONE*, 9(5), e96793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096793>.
- Torrado H., Carreras C., Raventos N., Macpherson E. & Pascual, M. (2020). Individual-based population genomics reveal different drivers of adaptation in sympatric fish. *Scientific Reports*, 10, 1-14. Doi 10.1038/s41598-020-69160-2.
- Torres-Hernández, E., Betancourt-Resendes, I., Solís-Guzmán, M.G., Robertson, R.D., Angulo, A., Martínez-Gómez, J.E., Espinoza, E., Domínguez-Domínuez, O. (2022). Phylogeography and evolutionary history of the Panamic Clingfish *Gobiesox adustus* in the Tropical Eastern Pacific. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 173, 107496. DOI 10.1016/j.ympev.2022.107496.
- Tovar-Verba, J., Ferreira, C.E.L., Pennino, M.G., Hagberg, L., Lopes, P.F.M., Ferreira, B.P., Lima, S.M.Q. & Stow, A. (2023). Genetic structure of the threatened Gray Parrotfish (*Sparisoma axillare*) in the Southwestern Atlantic. *Coral Reefs*, 42, 105-117. <https://doi.org/10.1007/s00338-022-02324-w>.
- Tyberghein, L., Verbruggen, H., Pauly, K., Troupin, C., Mineur, F. & De Clerck, O. (2012). Bio-ORACLE: a global environmental dataset for marine species distribution modelling. *Global Ecology and Biogeography*, 21, 272-281.

- Valverde, S., & Boza, J. (1999). Inducción al desove en hembras del pargo mancha, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *UNICIENCIA*, 15-16, 65-69.
- Van Dam, M.H., Lam, A.W., Sagata, K., Gewa, B. Laufa, R. *et al.* (2017). Ultraconserved elements (UCEs) resolve the phylogeny of Australasian smurf-weevils. *PLoS ONE*, 12(11), e0188044. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188044>.
- van Oppen, M.J., Rico, C., Turner, G.F. & Hewitt, G.M. (2000). Extensive homoplasy, nonstepwise mutations, and shared ancestral polymorphism at a complex microsatellite locus in Lake Malawi cichlids. *Molecular Biology and Evolution*, 17(4), 489-498. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a026329.
- Vargas, M.B. (1999). Estimación de parámetros biológico-pesqueros para el pargo mancha *Lutjanus guttatus* en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *UNICIENCIA*, 15-16, 65-69.
- Waliser, D.E. & Gautier, C. (1993). A Satellite-derived Climatology of the ITCZ. *Journal of Climate*, 6, 2162-2174. [https://doi.org/10.1175/1520-0442\(1993\)006<2162:ASDCOT>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0442(1993)006<2162:ASDCOT>2.0.CO;2).
- Wang, C. & Fiedler, P.C. (2006). ENSO variability and the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography*, 69(2-4), 239-266. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2006.03.004>.
- Waples, R.S. & Do, C. (2010). Linkage disequilibrium estimates of contemporary N_e using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evolutionary Applications*, 3(3), 244-62. doi: 10.1111/j.1752-4571.2009.00104.x.
- Ward, R.D., Elliott, N.G., Innes, B.H., Smolenski, A.J. & Grewe, P.M. (1997). Global population structure of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, inferred from allozyme and mitochondrial DNA variation. *Fishery Bulletin*, 95, 566-575.
- Weersing, K. & Toonen, R. J. (2009). Population genetic, larval dispersal, and connectivity in marine systems. *Marine Ecology Progress Series*, 393, 1-12. DOI: <https://doi.org/10.3354/meps08287>.
- Weir, B.S., & Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, 38(6), 1358–1370. <https://doi.org/10.2307/2408641>.
- Wickham, H. (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4. <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Wright, S. (1978). Evolution and the Genetics of Populations. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago.
- Wyrtki, K. (1981). An Estimate of Equatorial Upwelling in the Pacific. *Journal of Physical Oceanography*, 11, 1205–1214. [https://doi.org/10.1175/1520-0485\(1981\)011<1205:AEOEUI>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0485(1981)011<1205:AEOEUI>2.0.CO;2).
- Xu, S., Yanagimoto, T., Song, N., Cai, S., Gao, T. & Zhang, X. (2019). Population genomics reveals possible genetic evidence for parallel evolution of *Sebastiscus marmoratus* in the northwestern Pacific Ocean. *The Royal Society Publishing Open Biology*, 9, 190028. <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.190028>.
- Zapata, F.A. & Robertson, D. R. (2007). How many species of shore fishes are there in the Tropical Eastern Pacific?. *Journal of Biogeography*, 34, 38-51.
- Zhang, Y., Luan, P., Ren, G., Hu, G. & Yin, J. (2019). Estimating the inbreeding level and genetic relatedness in an isolated population of critically endangered Sichuan taimen (*Hucho Bleekeri*) using genome-wide SNP markers. *Ecology and Evolution*, 10, 1390-1400. DOI: 10.1002/ece3.5994.
- Zimmerman, S.J., Aldridge C.L. & Oyler-McCance, J. (2020). An empirical comparison of population genetic analyses using microsatellite and SNP data for a species of conservation concern. *BMC Genomics*, 21(382), 1.16. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06783-9>.

ANEXO I: PROTOCOLO RADcap

El primer paso consiste en cuantificar las muestras de ADN y estandarizarlas a una concentración de 20 ng/ μ l, en total se emplearon 100 ng.

Limpieza de muestras

1. Se rotulan los tubos con las etiquetas correspondientes
2. Se mezcla el buffer de cuantificación usando un vortex
3. Se prepara un master mix de cuantificación

Quibit reagent	1 μ l	X muestra
Quibit buffer	199 μ l	
4. Se mezcla el mix usando vortex
5. Mix para estándares

190 μ l de master mix
10 μ l de estándares
6. Mix para muestras

198 μ l de master mix
2 μ de muestra
7. Se mezcla el mix de cada tubo usando un vortex
8. Se deja reposar las muestras por 20 min a temperatura ambiente

Digestión

1. Se agita el buffer cutsmart usando un vortex
2. Se centrifuga el buffer cutsmart
3. Las enzimas son utilizadas sin agitar ni centrifugar, y se deben emplear 10 unidades de cada enzima, por lo que hay que conocer la concentración de las enzimas
4. Se prepara master mix de digestión

Buffer cutsmart	1.5 μ l	
Enzima A (20,000 U/mL)	0.5 μ l	
Enzima B (20,000 U/mL)	0.5 μ l	X muestra
Enzima C (10,000 U/mL)	0.5 μ l	

H₂O 2.5 µl

5. Se agregan 2 µl de adaptadores a una concentración de 5 µM (se pueden realizar hasta 96 combinaciones distintas).

Ejemplos:

Muestra 1 Cla I_A ----- Bam_1
Muestra 2 Cla I_A ----- Bam_2
Muestra 3 Cla I_A ----- Bam_3
Muestra 4 Cla I_A ----- Bam_4

6. Se coloca en termociclador con el siguiente programa:

37 °C ----- 1 hora } 1X
12 °C ----- ∞ }
Lid ----- 105 °C

Ligación

1. Se mezcla el buffer de ligación usando un vortex

2. Se prepara master mix de ligación

H₂O 2.75 µl
ATP 1.5 µl X muestra
Buffer ligasa 0.5 µl
Enzima ligasa 0.25 µl

3. Se agregaron 5 µl del master mix de ligación a los productos de digestión

4. Se mezcló la muestra con vortex y se centrifugó

5. Se coloca en termociclador con el siguiente programa:

Lid----- 105 °C
22 °C ----- 20:00 min } 1X
37 °C ----- 10:00 min }
80 °C ----- 20:00 min }
20 °C ----- ∞

Nota: Una vez finalizada la ligación, los productos de ligación son mezclados en un mismo tubo generando un “pool” de muestras haciendo lo siguiente:

- a. Se colocan 8 tubos de 0.2 mL, en cada tubo se agregan 10 μ l de 12 productos de ligación, teniendo un volumen de 120 μ l en cada tubo de 0.2 μ l
- b. En un tubo de 1.5 mL, se agregan 60 μ l de cada uno de los tubos de 0.2 mL, teniendo un volumen final de 480 μ l del producto de ligación. El volumen sobrante es almacenado a - 4 °C, para su futuro uso
- c. Finalmente volumen del tubo de 1.5 mL es dividido en dos tubos dejando un volumen de 120 μ l en cada tubo (estos tubos son considerados 2x 120 μ l)

Limpieza Post-ligación

1. A cada tubo de 1.5 mL con los 120 μ l de producto de PCR se agregan 150 μ l de perlas magnéticas, resuspendiendo las mismas una vez que están en el tubo (concentración de perlas de 1.25x, considerando 2x 150 μ l)
2. Se cierran los tubos, se mezclan usando un vortex y se centrifugan por dos segundos
3. Se deja reposar las muestras por 10 minutos a temperatura ambiente
4. Se colocan las muestras en una gradilla con imán y se deja reposar hasta que el líquido sea transparente y las perlas estén adheridas a las paredes del tubo.
5. Se retira el líquido sobrenadante, dejando solo las perlas
6. Se agregan 500 μ l de etanol al 80%, manteniendo las muestras en el imán
7. Se mantiene el etanol al 80% durante 30 seg aproximadamente en la muestra, una vez finalizado el tiempo, se retira el etanol
8. Se elimina el exceso de etanol empleando palillos de madera de punta plana
9. Se resuspenden cada tubo de 1.5 mL con productos agregando 30 μ l de buffer TE
10. Se mezclan los productos usando un vortex y se centrifuga la muestra
11. Se deja reposar la muestra a temperatura ambiente por 15 minutos a temperatura ambiente
12. Se colocan las muestras en la gradilla con imán para eliminar las perlas, transfiriendo a un tubo limpio, en el cual se colocan juntos los productos de pcr teniendo un volumen final de 60 μ l de producto de ligación, se almacena el producto con la etiqueta producto Post-PCR.

PCR corto

Para realizar el PCR se utiliza el producto de Roche Kapa HiFi HotStart más dNTPs

1. Se rotulan 3 tubos que se utilizaran en la reacción de PCR
2. Se prepara el master mix de PCR

Kapa bufer 5x Kapa HiFi	10 µl	
dNTPs 10mM Kapa HiFi	1.5 µl	X muestra
H ₂ O libre de nucleasa	7.5 µl	
Kapa HiFi DNA polimerasa (1 U/µL)	1 µl	

3. Se agregan 20 µl del master mix de PCR a cada tubo
4. Se agregan 5 µl de primer i5 que contiene 8 bases degeneradas (8N)
5. Se agregan 5 µl de primer i7

Ejemplos:

Muestra 1 iTru_5(8N) + iTru_7_101_1

Muestra 2 iTu_5(8N) + iTru_7_101_1

Muestra 2 iTu_5(8N) + iTru_7_101_1

6. Se agregan 20 µl de producto Post-ligación
7. Se colocan en termociclador con el siguiente programa

Lid -----	105 °C	
98 °C -----	1 min	
98 °C -----	20 seg	} 13X
60 °C -----	15 seg	
72 °C -----	30 seg	
72 °C -----	5 min	

Limpieza Post-PCR

1. A cada tubo de producto de PCR se agregan 50 µl de H₂O libre de nucleasa
2. Se agregan a los productos de PCR + H₂O 100 µl de perlas magnéticas, resuspendiendo las mismas una vez que están en el tubo
3. Se cierran los tubos, se mezclan usando un vortex y se centrifugan por dos segundos
4. Se deja reposar las muestras por 10 minutos a temperatura ambiente

5. Se colocan las muestras en una gradilla con imán y se deja reposar hasta que el líquido sea transparente y las perlas estén adheridas a las paredes del tubo.
6. Se retira el líquido sobrenadante, dejando solo las perlas
7. Se agregan 500 μ l de etanol al 80%, manteniendo las muestras en el imán
8. Se mantiene el etanol al 80% durante 30 seg aproximadamente en la muestra, una vez finalizado el tiempo, se retira el etanol
9. Se elimina el exceso de etanol empleando palillos de madera de punta plana
10. Se resuspenden cada tubo de 0.2 mL con productos agregando 20 μ l de buffer TE
11. Se mezclan los productos usando un vortex y se centrifuga la muestra
12. Se deja reposar la muestra a temperatura ambiente por 15 minutos a temperatura ambiente
13. Se colocan las muestras en la gradilla con imán para eliminar las perlas, transfiriendo a un tubo limpio, en el cual se colocan juntos los productos de pcr teniendo un volumen final de 60 μ l de producto de ligación, se almacena el producto con la etiqueta producto Post-PCR.

Visualización en gel y cuantificación

Para la visualización de los productos de PCR se utilizaron 3 μ l del producto Post-PCR y se colocaron en un gel de agarosa al 1.5%. Si los productos se encuentran entre 300 y 550 pares de bases (pb) (Fig.A1.1) se considera que es una librería correcta. Una vez corroborada la correcta elaboración de la librería, los productos se cuantificaban mediante Qubit utilizando el protocolo antes descrito. Los dos pools generados para *L. guttatus* fueron estandarizados s 15 ng/ μ l en un volumen de 60 μ l.

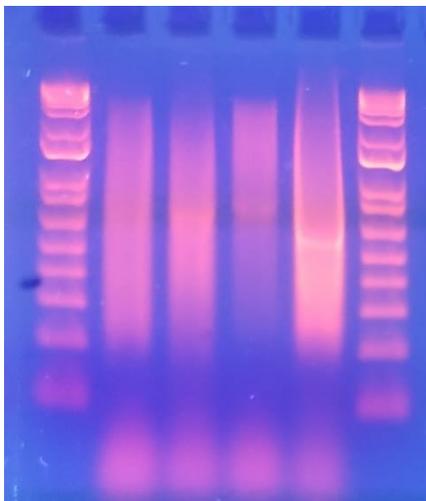


Fig. A1.1. Librerías genómicas de *L. guttatus* en donde se observa que la mayor concentración está entre los fragmentos de 300 y 550 pb.

ANEXO II: FLUJO DE TRABAJO PARA LA OBTENCIÓN DE VARIANTES (SNPs)

1.declone.sh (Eliminación de lecturas repetidas utilizando las distintas combinaciones de iTru_5 con bases degeneradas)

```
module load stacks/2.2
```

```
#####AQUI EMPIEZA EL SCRIPT RADCAP#####
```

```
echo "empezando Pool 1"
mkdir ../Declone_Pool1
clone_filter -1 ../raw/guttatus_Pool_1.1.fq.gz -2
../raw/guttatus_Pool_1.2.fq.gz -i gzfastq -o ../Declone_Pool1 -y
gzfastq --index_null --oligo_len_2 8 &>
../logos/clonefilter1_index_null.log
```

```
echo "empezando Pool 2"
mkdir ../Declone_Pool2
clone_filter -1 ../raw/guttatus_Pool_2.1.fq.gz -2
../raw/guttatus_Pool_2.2.fq.gz -i gzfastq -o ../Declone_Pool2 -y
gzfastq --index_null --oligo_len_2 8 &>
../logos/clonefilter2_index_null.log
```

```
echo "FINISH"
```

2.process.demultiplexed.sh (limpieza de lecturas eliminando adaptadores, y calidad de secuencias)

```
module load stacks/2.2
```

```
#ClaI, BamHI, MspI
```

```
mkdir -p ../process_outputpool1
process_radtags -1 ../Declone_Pool1/guttatus_Pool_1.1.1.fq -2
../Declone_Pool1/guttatus_Pool_1.2.2.fq -b ../info/BARCODESPLACA1.tsv -
o ../process_outputpool1 -c -q -r -t 140 --inline_inline --renz_1 mspI
--renz_2 claI -i gzfastq &> ../logos/processPool1.log
```

```
mkdir -p ../process_outputpool2
process_radtags -1 ../Declone_Pool2/guttatus_Pool_2.1.1.fq -2
../Declone_Pool2/guttatus_Pool_2.2.2.fq -b ../info/BARCODESPLACA2.tsv -
o ../process_outputpool2 -c -q -r -t 140 --inline_inline --renz_1 mspI
--renz_2 claI -i gzfastq &> ../logos/processPool2.log
```

```
mkdir -p ../processed/
```

```
cp ../info/BARCODESPLACA1.tsv .
for file in $(cut -f3 BARCODESPLACA1.tsv)
do
cp ../process_outputpool1/$file.1.fq.gz ../processed/$file.1.fq.gz
```

```

cat ../process_outputpool1/$file.rem.1.fq.gz >>
../processed/$file.1.fq.gz
done

```

```

cp ../info/BARCODESPLACA2.tsv .
for file in $(cut -f3 BARCODESPLACA2.tsv)
do
cp ../process_outputpool2/$file.1.fq.gz ../processed/$file.1.fq.gz
cat ../process_outputpool2/$file.rem.1.fq.gz >>
../processed/$file.1.fq.gz
done

```

3.index_BWA.sh (Generar genoma de referencia usando las sondas de *L. guttatus*)

```

module load samtools/1.0-gcc-4.4.6-s-serial
module load stacks/2.2

```

```

#PASO1. CREAR TU GENOMA DE REFERENCIA E INDEXARLO, genoma de
referencia: guttatus
REF=../refs/sondas.fa

```

```

#build an index or database with bwa
bwa index $REF &> ../logos/bwa.index.log

```

4.alinear_bwa.sh (mapeo de lecturas)

```

module load samtools/1.0-gcc-4.4.6-s-serial
module load stacks/2.2

```

```

#Align paired-end data with BWA, src= ../cleaned

```

```

REF=../refs/sondas.fa
mkdir -p ../BWAaligned

```

```

cp ../info/popmap.tsv .

```

```

for sample in $(cut -f1 popmap.tsv);
do
bwa mem -t 4 -M ${REF} ../processed/${sample}.1.fq.gz >
../BWAaligned/${sample}.sam
done

```

5.index2compress2bam.sh (genoma de referencia)

```

module load samtools/1.0-gcc-4.4.6-s-serial
module load stacks/2.2

```

```

#paso3.- Comprimir nuestro archivo de alineamiento SAM con SAMTOOLS,
Samtools generate its own index of the reference genome "-b" output
BAM; -T reference file; -o output filename$

```

```

mkdir -p ../BWAaligned/alignedbam
mkdir -p ../BWAaligned/refs_sam

```

```

cp ../refs/sondas.fa ../BWAaligned/refs_sam/
REF_SAM= ../BWAaligned/refs_sam/sondas.fa

samtools faidx $REF_SAM

#paso4.- CONVERTIR EL ARCHIVO SAM EN UN ARCHIVO BAM

for sample in $(cut -f1 popmap.tsv);
do
samtools import $REF_SAM.fai ../BWAaligned/${sample}.sam
../BWAaligned/alignedbam/${sample}.bam &> ../logos/samtools_import.log
done

```

6.sorting_bam.sh (ordenar archivos bam)

```

module load samtools/1.0-gcc-4.4.6-s-serial
module load stacks/2.2

#PASO 5.- ORDENAMOS LOS ARCHIVOS BAM
mkdir -p ../BWAaligned/bam_sort
for sample in $(cut -f1 popmap.tsv)
do
samtools sort -O bam -T ../BWAaligned/${sample} -o
../BWAaligned/bam_sort/${sample}.bam
../BWAaligned/alignedbam/${sample}.bam &> ../logos/bam_sort.log
done

```

7.indexing_bam.sh (alineamiento de genomas)

```

module load samtools/1.0-gcc-4.4.6-s-serial
module load stacks/2.2

mkdir -p ../BWAaligned/bam_sort

#PASO 6.-INDEXAR ARCHIVOS-BAM
for sample in $(cut -f1 popmap.tsv)
do
samtools index ../BWAaligned/bam_sort/${sample}.bam
done

```

8.gstacks (construcción de loci)

```

module load stacks/2.2

#PASO 7.- CORRER gstacks PARA CONSTRUIR LOS LOCI
mkdir -p ../gstacks_output145
gstacks -I ../BWAaligned/bam_sort/ -M popmap.tsv -O
../gstacks_output145/ -t 6 &> ../logos/gstacks145.log

```

9.populations_all_SNP (llamado de SNPs)

```

module load stacks/2.2

#PASO 8. CORRER EL MODULO populations. CALCULANDO DESVIACIÓN Hardy-
Weinberg, ESTADISTICAS POBLACIONALES, ESTADISTICOS POBLACIONALES.
cp ../info/popmap.tsv .

```

```
mkdir -p ../gstacks_output/populations_NOFILTERS_all_SNPs
populations -P ../gstacks_output/ -O
../gstacks_output/populations_NOFILTERS_all_SNPs -M popmap.tsv -r 0.80
--vcf --plink --genepop \
--fasta --fstats -k --sigma 100000 --structure --hwe
>../logos/populations_NOFILTERS_2${S}.log
```

```
#MAXP=7
#for ((p=1; p<=$MAXP; p++))
#do
#mkdir -p ../gstacks_output/populations2_r0.8_p$p
#populations -P ../gstacks_output/ -O
../gstacks_output/populations2_r0.8_p$p -r 0.8 \
#-p $p --min_maf 0.05 --max_obs_het 0.70 -M popmap.tsv \
# --genepop --fasta --fstats -k --sigma 100000 --smooth_popstats --
smooth_fstats --bootstrap_fst --hwe --vcf --structure &>
../logos/populations2_r0.8_p$p.log
#done
```

ANEXO III: RESULTADOS COMPLEMENTARIOS

En el presente anexo se muestran los resultados que utilizamos para evaluar la relevancia de los datos faltantes en los resultados principales discutidos en el presente trabajo de investigación. El filtrado de datos considerando un porcentaje menor al 20% de datos faltantes resultó en una base de 115 individuos y 2464 SNPs. El análisis de discriminantes de componentes principales (DAPC), sin un agrupamiento previo, muestra una clara separación entre las localidades al norte y sur del POT, recobrando los dos clústeres obtenidos con la otra base utilizada (Norte y Sur) (Fig. AIII.1).

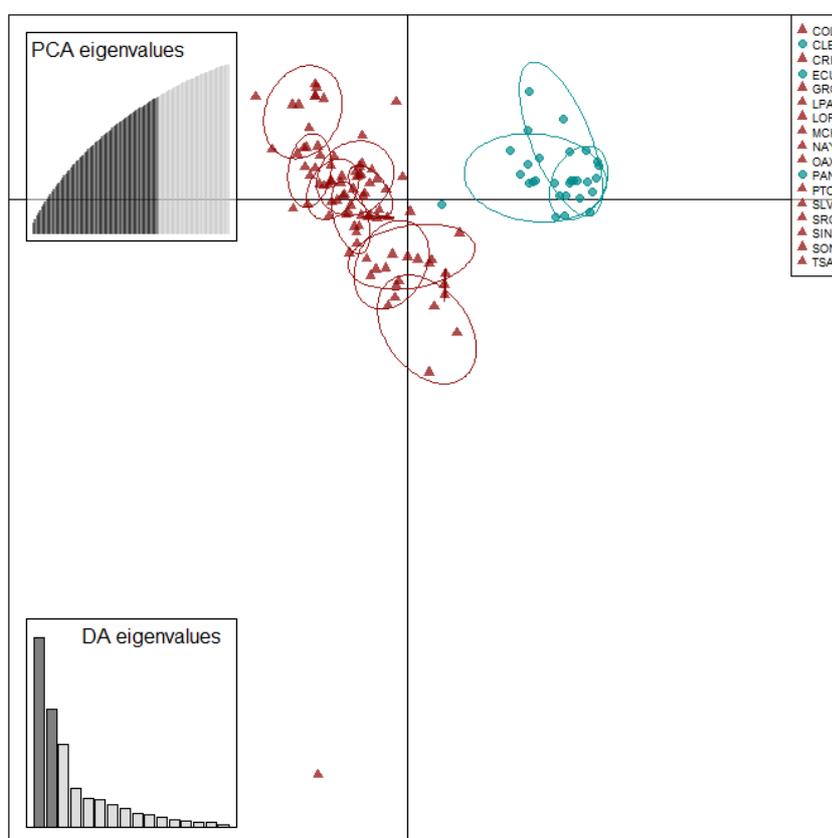


Fig. AIII.1. Resultado de DAPC utilizando 2464 SNPs y 115 individuos, PAN, COL y ECU, están señalados en amarillo, verde y azul.

En cuanto a los valores de F_{ST} pareados, considerando el ajuste del valor de significancia ($p = 0.015$), se observó diferenciación genética en las tres localidades al sur de la distribución de la especie, PAN (rango $F_{ST} = 0.0126-0.0218$; $p = 0.0091-0.0034$), CLB ($F_{ST} = 0.0250$; $p = 0.0065$) y ECU (rango $F_{ST} = 0.0208-0.0315$; $p = 0.0005-0.0039$) (Tabla AIII.1.)

Tabla AIII.1. Valores de F_{ST} pareados para la base de datos con valores de datos faltantes menores al 20% (115 individuos, 2464 SNPs) para *L. guttatus*.

Valor de significancia, $p = 0.015$

	Grupo norte											Grupo sur					
	SRO	SON	LOR	LPA	TSA	SIN	NAY	COL	MCH	GRO	PTO	OAX	SLV	CRI	PAN	CLB	ECU
SRO	0	0.8361	0.9999	0.9999	0.7983	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	0.9093	0.9999	0.9999	0.8858	0.9999	0.9999	0.8015	0.7877
SON	-0.0812	0	0.9656	0.9999	0.8615	0.3826	0.5720	0.2989	0.8689	0.5746	0.5305	0.9999	0.1141	0.7673	0.0034	0.0158	0.0039
LOR	-0.0516	-0.0215	0	0.9999	0.9999	0.9988	0.9981	0.9867	0.9999	0.9935	0.9999	0.9999	0.7565	0.9999	0.9785	0.2552	0.6028
LPA	-0.0476	0.0665	0.0463	0	0.4038	0.2521	0.2384	0.1009	0.3365	0.2703	0.2528	0.9999	0.1105	0.4145	0.0763	0.2050	0.2843
TSA	-0.0491	-0.0114	-0.0233	0.0720	0	0.9993	0.9884	0.9913	0.9999	0.9815	0.6550	0.9999	0.3333	0.9909	0.5578	0.0562	0.1985
SIN	-0.1348	0.0072	-0.0294	0.0625	-0.0203	0	0.3133	0.7299	0.9196	0.0561	0.6567	0.9999	0.6365	0.6352	0.0000	0.1341	0.0000
NAY	-0.1269	0.0028	-0.0399	0.0565	-0.0120	0.0043	0	0.4637	0.7963	0.2581	0.4223	0.9999	0.2378	0.9043	0.0000	0.2054	0.0000
COL	-0.1159	0.0062	-0.0158	0.0575	-0.0162	0.0013	0.0031	0	0.5718	0.6654	0.6178	0.9999	0.2923	0.3805	0.0000	0.0065	0.0005
MCH	-0.1428	-0.0091	-0.0309	0.0399	-0.0175	-0.0006	0.0009	0.0031	0	0.7612	0.5661	0.9999	0.3687	0.9425	0.0091	0.4264	0.0004
GRO	-0.1091	0.0034	-0.0323	0.0488	-0.0154	0.0086	0.0054	0.0012	0.0012	0	0.7136	0.9999	0.0970	0.4566	0.0001	0.1245	0.0000
PTO	-0.1063	0.0067	-0.0011	0.0719	0.0000	0.0046	0.0104	0.0047	0.0082	0.0007	0	0.9999	0.1772	0.6451	0.4938	0.0262	0.1973
OAX	-0.2459	-0.1066	-0.0704	-0.0112	-0.0649	-0.0910	-0.1084	-0.0971	-0.1382	-0.0743	-0.0412	0	0.7802	0.9999	0.9999	0.9999	0.7792
SLV	-0.0657	0.0113	-0.0039	0.1052	0.0071	0.0019	0.0056	0.0042	0.0054	0.0096	0.0190	-0.0492	0	0.3031	0.0005	0.0158	0.0001
CRI	-0.1143	0.0002	-0.0184	0.0598	-0.0157	0.0034	-0.0016	0.0051	-0.0015	0.0058	0.0062	-0.0712	0.0068	0	0.0514	0.4584	0.0517
PAN	-0.0894	0.0218	-0.0165	0.0792	0.0038	0.0188	0.0186	0.0197	0.0126	0.0181	0.0074	-0.0745	0.0214	0.0119	0	0.5938	0.5321
CLB	-0.0003	0.0331	0.0288	0.1465	0.0411	0.0169	0.0128	0.0250	0.0105	0.0190	0.0487	-0.0130	0.0259	0.0097	0.0034	0	0.2695
ECU	-0.0580	0.0315	0.0078	0.1179	0.0181	0.0234	0.0253	0.0208	0.0214	0.0242	0.0272	-0.0360	0.0255	0.0168	0.0028	0.0154	0

Nota: Debajo de la diagonal se encuentran los valores de F_{ST} , encima de diagonal se encuentra los valores de p . Los valores de F_{ST} significativos son resaltados en negritas. SRO: Santa Rosalía, SON: Sonora, LOR: Loreto, LPA: La Paz, TSA: Todos Santos, SIN: Sinaloa, NAY: Nayarit, COL: Colima, MCH: Michoacán, GRO: Guerrero, PTO: Partidito, OAX: Oaxaca, SLV: Salvador, CRI: Costa Rica, PAN: Panamá, CLB: Colombia y ECU: Ecuador

El análisis de AMOVA evaluando los Grupos Norte y Sur, recupera un valor de diferenciación genética significativa entre estos ($F_{CT} = 0.0156$; $p = 0.001$) (Tabla AIII.2), lo cual corrobora que las poblaciones de *L. guttatus* se segregan genéticamente en dos clústeres.

Tabla AIII.2. Resultados de AMOVA evaluando los Grupos Norte y Sur en *Lutjanus guttatus*, utilizando la base de datos con 2464 SNPs.

Dos grupos	Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	valor de p
Norte + Sur	Entre grupos	1.6	$F_{CT} = 0.0156$	0.001
	Entre poblaciones dentro de grupos	-0.04	$F_{SC} = -0.0003$	NS
	Entre poblaciones	98.44	$F_{ST} = 0.0156$	NS

Nota: NS = No significativo